

27.11.3102.11

Université de Montréal

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE LA PASTEURISATION
À LA VAPEUR POUR LE CONTRÔLE DE LA CONTAMINATION
MICROBIOLOGIQUE DES CARCASSES BOVINES

Par

Harold Corantin

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option microbiologie

Septembre 2003

© Harold Corantin, 2003



SF
607
U54
2004
V.006

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE LA PASTEURISATION
À LA VAPEUR POUR LE CONTRÔLE DE LA CONTAMINATION
MICROBIOLOGIQUE DES CARCASSES BOVINES

Présenté par

Harold Corantin

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

.....
Serge Messier, président-rapporteur

.....
Sylvain Quessy, directeur de recherche

.....
Alain Houde, codirecteur

.....
Daniel Perron, membre du jury



RÉSUMÉ

La présente étude a été conduite dans un abattoir de bovins du Québec afin d'évaluer l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur des carcasses dans le contrôle de la contamination microbiologique. Les prélèvements ont été effectués par chiffonnage sur des sites aléatoires avant (A) et après (B) pasteurisation ainsi qu'après (C) réfrigération afin d'évaluer sur milieux Pétrifilms® les comptes totaux aérobies (CTA), les coliformes totaux (CCT), les *Escherichia coli* génériques (CEC) et pour évaluer à l'aide de techniques d'enrichissement standard la prévalence de *Salmonella* spp., de *Listeria monocytogenes* et de *E. coli* O157:H7. Les isolats de *E. coli* et de *L. monocytogenes* obtenus ont également été caractérisés respectivement par technique d'hybridation sur colonie et par technique de PCR pour le dépistage des gènes de virulence. Les isolats dotés de gènes de virulence ont été testés pour leur susceptibilité aux antibiotiques par antibiogramme en utilisant la méthode de diffusion sur gélose.

Les comptes bactériens pour les CTA, les CCT et les CEC affichaient des valeurs moyennes de 2,18, de 0,16 et de 0,06 log₁₀ ufc/cm² avant pasteurisation, de 1,17, de 0,03 et de 0,01 log₁₀ ufc/cm² après pasteurisation et de 0,89, de 0,02 et de 0,01 log₁₀ ufc/cm² après réfrigération. L'analyse des résultats montre une réduction significative ($p < 0,05$) d'au moins 1 log₁₀ ufc/cm² entre les comptes totaux avant et après pasteurisation et des réductions significatives pour les coliformes totaux et les *E. coli* génériques après pasteurisation. Le dénombrement des coliformes totaux a affiché des valeurs très faibles avant pasteurisation. La contamination moyenne par les coliformes totaux a été inférieure à 0,2 log sur l'ensemble des échantillons. Toutefois, la prévalence des coliformes sur les carcasses avant la pasteurisation a été de 34,0%. Après traitement, la prévalence des coliformes sur les carcasses a été évaluée à 15,0% après pasteurisation et à 7,3% après réfrigération. Il a aussi été remarqué un faible taux de contamination des carcasses avant traitement par les *E. coli* génériques (14,2%). Toutefois, la pasteurisation à la vapeur a permis de réduire la prévalence à moins de 2% sur les carcasses traitées.

La prévalence de *L. monocytogenes* sur les carcasses avant pasteurisation, après pasteurisation et après réfrigération a été évaluée à 0,8%, 2,6% et 3,1% respectivement. Ainsi, une augmentation significative des *L. monocytogenes* a été observée après le traitement. Aucune souche de salmonelles n'a été détectée sur les

carcasses avant et après pasteurisation. Par contre, une carcasse s'est avérée positive pour *Salmonella* spp. après réfrigération. Aucune souche d'*E. coli* O157:H7 n'a été isolée sur les carcasses échantillonnées.

La prévalence des *E. coli* dotés de un ou plusieurs gènes de virulence sur l'ensemble des échantillons de carcasses a été de 14,7% soit 11,9% des isolats obtenus avant pasteurisation, 22,2% des isolats obtenus après pasteurisation et 31,2% des isolats obtenus après réfrigération. Tous les isolats de *L. monocytogenes* se sont avérés positifs pour les trois principaux facteurs de virulence qui ont été testés (*hlyA*, *inlB* et *pclB*).

Les résultats des antibiogrammes montrent que certains isolats sont sensibles à tous les antibiotiques, certains montrent une sensibilité variable et d'autres sont multirésistants. Les isolats de *E. coli* et de *Salmonella* Typhimurium montrent une sensibilité à la gentamicine, l'amoxicilline/acide clavulanique, l'enrofloxacin, la céfoxitine et le ceftiofur. Par contre, chez les isolats de *E. coli*, on a observé une résistance vis-à-vis de la streptomycine (37%), de la tétracycline (30%), de la triméthoprim/sulfaméthoxazole (12%), de l'ampicilline (8%), du chloramphénicol (4%) et une sensibilité intermédiaire pour l'ampicilline (4%) et céphalothine (4%). Pour *Salmonella* Typhimurium, on a noté une résistance vis-à-vis du chloramphénicol, de l'ampicilline, de la streptomycine et une sensibilité intermédiaire pour la tétracycline.

Les résultats de cette étude montrent que la pasteurisation à la vapeur, appliquée dans le cadre d'un modèle HACCP, permet de diminuer significativement les comptes des bactéries indicatrices sur les carcasses. Cette technique peut être considérée comme un moyen efficace pour contrôler la contamination initiale des carcasses et par conséquent de réduire l'exposition des consommateurs aux bactéries pathogènes. Néanmoins, cette technique comporte le désavantage de favoriser la croissance de certaines bactéries pathogènes comme *L. monocytogenes*.

Mots clés : Pasteurisation, vapeur, contamination, carcasses, bovines, danger, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*.

SUMMARY

The study was carried out in a beef processing plant in Quebec to evaluate, the effectiveness of a steam pasteurization treatment in controlling microbiological contamination. Samples were taken by swabbing randomly selected sites before (A) and after (B) pasteurization and after (C) chilling to obtain total aerobic counts (TAC), total coliform counts (TCC) and generic *E. coli* (*Escherichia coli*) counts (ECC) and to determine the prevalence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *E. coli* O157:H7. *E. coli* and *L. monocytogenes* isolates obtained on carcasses were characterized respectively by a colony hybridization method and by PCR for the detection of virulence genes. Antimicrobial susceptibility test was performed for all isolates harbouring virulence gene using disk-diffusion method.

Mean values for TAC, TCC and ECC were 2,18, 0,16 and 0,06 log₁₀ cfu/cm² respectively before pasteurization; 1,17, 0,03 and 0,01 log₁₀ cfu/cm² after pasteurization; and 0,89, 0,02 and 0,01 log₁₀ cfu/cm² after chilling. Analysis of results shows a significant reduction ($p < 0,05$), of at least 1 log₁₀ cfu/cm², in total counts after pasteurization and significant reductions in total coliforms and generic *E. coli* after pasteurization as well. Total coliform counts before pasteurization were very low: the mean value was below 0,2 log for all samples. Coliform prevalence on carcasses was 34,0% before treatment; while the incidence of coliforms dropped to 15,0% after pasteurization and to 7,3% after chilling. Low rates of pre-treatment carcass contamination were also observed for generic *E. coli* (14,2%). Steam pasteurization reduced the incidence of the bacteria to less than 2%.

The prevalence of *L. monocytogenes* on carcasses before pasteurization, after pasteurization and after chilling was 0,8% (8 cases), 2,6% (26 cases) and 3,1% (31 cases) respectively. A significant increase in *L. monocytogenes* was observed after treatment. No *Salmonella* strains were detected on carcasses before or after pasteurization. However, one carcass tested positive for *Salmonella* spp. after chilling. No *E. coli* O157:H7 strains were isolated from the carcasses sampled.

The prevalence of *E. coli* harbouring one or more virulence genes was 14,7%. Namely 11,9% of the isolates obtained before pasteurization, 22,2% of the isolates obtained after pasteurization and 31,2% of the isolates obtained after refrigeration had virulence genes. All of *L. monocytogenes* isolates were positively tested for the three major virulence factors examined (*hlyA*, *inlB* and *pclB*).

Results of antibiograms showed that certain isolates were sensitive to all antibiotics, some showed an intermediate sensitivity and others were resistant to many antimicrobial agent. All *E. coli* and *Salmonella* Typhimurium isolates were susceptible to gentamicin, amoxicilline/clavulanic acid, enrofloxacin, cefoxitin and ceftiofur. On the other hand, isolates of *E. coli*, were resistant to streptomycin (37%), tetracycline (30%), trimethoprim/sulfamethoxazole (12%), ampicillin (8%), chloramphenicol (4%) and showed intermediate sensitivity to ampicillin (4%) and cephalothin (4%). *Salmonella* Typhimurium was resistant to chloramphenicol, ampicillin, streptomycin and showed intermediate sensitivity for tetracycline.

The results of this study show that steam pasteurization, used as a part of a HACCP system, help to significantly decrease indicator organism counts on beef carcass. This technique can be regarded as an effective mean to control initial contamination on carcasses and consequently to reduce the exposure of consumers to pathogenic bacteria. However, pasteurization may promote the growth of some pathogenic microorganisms such as *L. monocytogenes*.

Key words: Pasteurization, steam, contamination, carcasses, bovines, hazard, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*.

TABLE DES MATIÈRES

IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii
SUMMARY.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
LISTE DES FIGURES.....	xii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xiii
DÉDICACE.....	xv
REMERCIEMENTS.....	xvi
I- INTRODUCTION.....	1
II- RECENSION DE LA LITTÉRATURE.....	3
1 La microflore initiale de la carcasse bovine.....	4
1.1 La contamination initiale.....	4
1.1.1 Facteurs intrinsèques.....	4
1.1.2 Facteurs extrinsèques.....	6
1.1.2.1 Contamination due au processus d'abattage.....	6
1.1.2.2 Facteurs environnementaux.....	7
2 Localisation de la contamination.....	8
3 Attachement des bactéries à la surface des carcasses.....	8
4 Constitution de la flore retrouvée sur la carcasse.....	9
4.1 La flore saprophyte d'altération.....	9
4.2 La flore pathogène.....	10
5 Développement des microorganismes.....	10
5.1 La contamination initiale des carcasses.....	10
5.2 Facteurs intrinsèques.....	11
5.3 Facteurs extrinsèques.....	11
5.3.1 Température.....	12
5.3.2 L'humidité.....	12
5.3.3 Le potentiel d'hydrogène (le pH).....	14
5.3.4 Le potentiel d'oxydoréduction (E_h).....	14
6 Les modèles pour évaluer la qualité hygiénique des carcasses.....	15
6.1 La flore aérobie mésophile totale.....	15

6.2	La flore totale aérobie psychrotrophe totale.....	15
6.3	La flore aérobie thermorésistante.....	16
6.4	Les coliformes totaux et fécaux.....	16
6.5	Les <i>E. coli</i> génériques.....	16
6.6	<i>Salmonella</i> spp.....	17
6.7	<i>Listeria</i> spp.....	17
7	Technologie de décontamination des carcasses bovines.....	17
7.1	Réduction <i>ante-mortem</i>	17
7.1.1	Effets de diète.....	17
7.1.2	Exclusion concurrentielle.....	18
7.1.3	Traitement de l'eau potable.....	18
7.1.4	Administration de chlorate.....	18
7.1.5	Autres technologies.....	19
7.2	Techniques de décontamination <i>post-mortem</i>	19
7.2.1	Parage.....	19
7.2.2	Dépilage chimique.....	20
7.2.3	Rinçage à l'eau chaude.....	20
7.2.4	Vapeur sous-vide.....	20
7.2.5	Lavage à l'acide.....	21
7.2.6	Pasteurisation à la vapeur.....	21
8	Les pathogènes bactériens étudiés.....	22
8.1	<i>Listeria monocytogenes</i>	22
8.1.1	Description.....	22
8.1.2	Propriétés antigéniques.....	22
8.1.3	Caractères cultureux	22
8.1.4	Pouvoir pathogène.....	23
8.1.4.1	Étapes de l'infection et facteurs de virulence	23
8.1.5	Épidémiologie.....	25
8.2	<i>Escherichia coli</i>	26
8.2.1	Description.....	26
8.2.2	Propriétés antigéniques.....	27
8.2.3	Caractères cultureux.....	27
8.2.4	Pouvoir pathogène.....	28

8.2.4.1 Les infections.....	28
8.2.4.2 Les facteurs de virulence	29
8.2.4.2.1 Les facteurs d'adhésions.....	29
8.2.4.2.2 Les toxines.....	30
8.2.5 Épidémiologie.....	30
8.3 <i>Salmonella</i> spp.	31
8.3.1 Introduction.....	31
8.3.2 Morphologie.....	32
8.3.3 Propriétés biochimiques.....	32
8.3.4 Propriétés antigéniques.....	32
8.3.5 Caractères cultureux.....	33
8.3.6 Pourvoir pathogène.....	33
8.3.6.1 Les infections.....	33
8.3.6.2 Les facteurs de virulence.....	34
8.3.6.2.1 Lipopolysaccharide (LPS).....	34
8.3.6.2.2 Fimbriae.....	35
8.3.6.2.3 Toxines.....	35
8.3.6.2.4 Sidérophores.....	35
8.3.6.2.5 Autres facteurs de virulence.....	36
8.3.6.2.6 Plasmides.....	36
8.3.7 Épidémiologie.....	37
III- MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS.....	38
IV- DISCUSSION ET CONCLUSION.....	76
1. Évaluation de la contamination initiale des carcasses.....	78
1.1. Les organismes indicateurs.....	78
1.1.1. La flore mésophile totale.....	78
1.1.2. Les coliformes totaux.....	79
1.1.3. Les <i>E. coli</i> génériques.....	80
2 Efficacité de la pasteurisation à la vapeur sur les organismes indicateurs.....	81
2.1. Flore mésophile totale.....	81
2.2. Coliformes totaux.....	82
2.3. <i>E. coli</i> totaux.....	82
3 Effet de la réfrigération sur les indicateurs.....	82

3.1. Flore mésophile totale.....	83
3.2. Coliformes totaux.....	83
3.3. <i>E. coli</i> totaux.....	83
4 Efficacité du traitement à la vapeur sur les pathogènes.....	84
4.1. <i>Salmonella</i> spp.....	84
4.2. <i>Listeria</i> spp.....	85
4.3. <i>E. coli</i> O157.....	85
5 Représentativité de la méthode de recouvrement bactérien.....	86
6 Facteurs de virulence des isolats identifiés sur les carcasses.....	87
6.1. Prévalence des facteurs de virulence des isolats de <i>E. coli</i>	87
6.2. Prévalence des facteurs de virulence des isolats de <i>L. monocytogenes</i>	89
7 Antibiorésistance des souches pathogènes.....	90
7.1. <i>E. coli</i>	90
7.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	91
7.3. <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	91
8 Effet de la vapeur sur la température et le pH ultime du muscle.....	92
8.1. Température intramusculaire.....	92
8.2. pH ultime.....	93
9 Conclusion.....	93
V- BIBLIOGRAPHIE.....	95

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Amorceurs utilisés pour l'amplification des gènes de virulence des isolats de <i>L. monocytogenes</i>	67
Tableau II. Moyennes et écart-types des \log_{10} ufc/cm ² des comptes totaux, des coliformes totaux et des <i>E. coli</i> totaux, ainsi que la valeur estimée de logA avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).....	68
Tableau III. Prévalence des bactéries pathogènes sur les carcasses avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).....	69
Tableau IV. Prévalence des carcasses contaminées par des coliformes et des <i>E. coli</i> avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).....	70
Tableau V. Pathotype des <i>E. coli</i> isolés sur les carcasses des bovins.....	71
Tableau VI. Résultats des antibiogrammes sur les isolats d' <i>E. coli</i>	72
Tableau VII. Résultats des antibiogrammes sur les isolats de <i>L. monocytogenes</i>	73
Tableau VIII. Moyennes des températures et des pH intramusculaires des carcasses.....	74

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Amplification par PCR des gènes de virulence de souches de <i>L. monocytogenes</i> isolés sur les carcasses de bovins.....	75
--	----

LISTES DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACIA : Agence canadienne d'Inspection des Aliments
Act : Actine polymérase
ADN : Acide désoxyribonucléique
AFA : Adhésine afimbriaire
AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
AOAC : Association of Official Analytical Chemists
 a_w : Activité de l'eau
CFA : Colonising factor antigen
CLDT : Cytolethal distending toxin
CNF : Cytotoxic necrosing factor
Coll.: Collaborateur
DAEC : Entero-adherent *E. coli*
dCTP : Désoxycytosine triphosphate
dNTPs : Désoxynucléotide triphosphate
eae : EPEC attaching and effacing
EAEC : Entero-adherent *E. coli*
EAggEC : Entero-aggregative *E. coli*
EHEC : Entero-hemorrhagic *E. coli*
EIEC: Entero-invasive *E. coli*
EPEC: Enteropathogenic *E. coli*
ETEC : Enterotoxigenic *E. coli*
FSIS-USDA : Food safety Inspection Service, United State Departement of Agriculture
GMP: Guanosine monophosphate
HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point
HepG: Cellules d'hépatocarcinome humain
Hly : Hémolysine
HSP : Heat shock protein
Inl : Internaline
IRP : Internaline related protein
ISA : Immuno suppressive activity

kDa : kilo Dalton

LAEC : Localised adherent *E. coli*

LPS : Lipopolysaccharide

LT : Toxine thermolabile

MDa : mega Dalton

Mlp : Metalloprotéase

MPA : Monocytosis producing activity

NMEC : Neonatal meningitidis *E. coli*

Pap: P fimbriae

PC-PLC : Phosphatidyl-choline Phospholipase C

PI-PLC : Phosphatidyl-inositol Phospholipase C

PLC : Phospholipase C

prfA : Protein regulator factor

SEF : *Salmonella enteritidis* fimbriae

SFA: S-frimbriae adhesins

SSP: Serovar-specific plasmid

ST: Toxine thermostable

Stx : Shigatoxine

Svp: *Salmonella* plasmid virulence

TSI : Triple sugar iron

ufc : Unité formatrice de colonies

UPEC : Uropathogenic *E. coli*

VT : Vérotoxine

Ce travail est dédié spécialement :

À Roseline, un trésor irremplaçable dans ma vie,

À Michelle, une femme exceptionnelle,

Au feu Celhomme dont les souvenirs sont à jamais gravés dans ma mémoire,

A tous mes amis en particulier à Gaudy, Caroline, Jinny, Danie-Josée, Florence, Marielle, Diane, Sylvie, Carole, Johanne, Monic, Cindy, Julie, Anne, Béatrice, Chantal, Nathalie, Michaëlle, Garry, Junior, Manjit, Kalidou, Reginald, Eric, André, Gilles, Romulus, Jean Claude, Colo, Kesner, Moïse et Lesly qui m'ont donné tout leur support moral et intellectuel.

REMERCIEMENTS

Ils s'adressent directement :

Au Docteur Sylvain Quessy, mon directeur de recherche, qui nous a accompagné tout au long de ces études et qui a su mettre toute son expertise et sa patience pour nous aider à parfaire ce mémoire,

Au Docteur Alain Houde, mon codirecteur de recherche, qui a bien voulu nous intégrer dans son projet de recherche et qui a mis à notre disposition tous les supports didactiques nécessaires à la réalisation de ce travail,

A Laurette Bard, Louise Lessard, Danielle Leblanc, Annie Desrosiers et Marie-lou Gaucher, pour leur assistance technique.

INTRODUCTION

La transformation des bovins en viande est un processus qui conduit inévitablement à la contamination du muscle. En effet, pendant le déshabillage et l'éviscération, les microorganismes de la peau, du tube digestif ou de l'environnement sont déposés sur la surface de la carcasse en dépit de toutes les mesures hygiéniques adoptées à l'abattoir. Parmi ces microorganismes, certains comme les *E. coli* génériques et les coliformes totaux sont des indicateurs de contamination fécale ou environnementale et renseignent sur le niveau d'hygiène à l'abattoir. D'autres comme *E. coli* O157, *Salmonella* Typhimurium et *Listeria monocytogenes* sont des pathogènes alimentaires et peuvent être responsables de problèmes graves de santé publique suite aux toxi-infections qu'elles engendrent. Outre les mortalités et les morbidités qui s'ensuivent, les toxi-infections alimentaires ont des retombées considérables sur l'économie des individus, des familles, des industries et des systèmes de soins de santé. On estime que les toxi-infections d'origine alimentaire causent chaque année, seulement aux USA, 76 millions de cas de morbidité, 325 000 cas d'hospitalisation et 5 000 cas de mortalité et engendrent des coûts de 22 milliards de dollar (Bacon et coll., 2002; Tollefson et Miller, 2000). La viande de bœuf, en particulier le bœuf haché, est souvent incriminée dans des épisodes de toxi-infections mettant en cause des pathogènes en émergence comme *E. coli* O157, *S. Typhimurium* multirésistante et *L. monocytogenes*.

Pour diminuer l'exposition des consommateurs aux agents pathogènes susceptibles de se développer dans la viande, diverses méthodes, comme le parage, le lavage à l'acide et la pasteurisation, ont été développées afin de décontaminer les carcasses à l'abattoir. Parmi les nouvelles technologies utilisées, le traitement à la vapeur semble présenter une meilleure efficacité par son action sur la diminution des microorganismes d'altération, l'élimination des bactéries pathogènes et la conservation de la qualité organoleptique de la carcasse. Cependant, les premiers modèles de pasteurisateurs mis en marché ont été remplacés par de nouveaux prototypes plus adaptés aux besoins des industries. De ce fait, il est important de vérifier l'efficacité de ces nouveaux prototypes sur les différents groupes de microorganismes indicateurs de contamination microbienne ainsi que sur certains pathogènes dans un contexte industriel d'abattage.

Les objectifs de cette étude étaient de vérifier l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur des carcasses bovines dans la réduction des microorganismes indicateurs tels la flore aérobie totale, les coliformes totaux et les *E. coli* génériques ou dans le contrôle de certains pathogènes tels *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. et *E. coli* O157:H7, et de mesurer l'effet du traitement à la vapeur sur des paramètres tels le pH et la température intramusculaire. Il s'agissait aussi de vérifier l'effet de la vapeur sur la sélection de certains pathogènes en les caractérisant pour différents facteurs de virulence et aussi de vérifier leur susceptibilité vis-à-vis des agents antimicrobiens usuels.

II- RECENSION DE LA LITTÉRATURE

1 La microflore initiale de la carcasse bovine

La microflore rencontrée sur la carcasse, résultat de la contamination microbienne du muscle stérile pendant le processus de déshabillage et d'éviscération, dérive soit de l'environnement ou des germes hébergés par l'animal (Reid et coll., 2002; Bacon et coll., 2000; Hasson, 2001; Sofos et coll., 1999c; Sheridan, 1998; Bell, 1997; Rahkio et Korkeala, 1997). Cette microflore comporte en général des microorganismes d'altération déterminant la durée de vie du produit, mais peut aussi contenir des pathogènes susceptibles de causer des pathologies chez les humains, suite à l'ingestion du produit contaminé (Sofos et coll., 1999a, 1999b; Jordan et coll., 1999; Iida et coll., 1998).

1.1 La contamination initiale

1.1.1 Facteurs intrinsèques

Les microorganismes rencontrés sur la carcasse témoignent à la fois de la situation sanitaire des animaux à la ferme et des conditions hygiéniques à l'abattoir (Beach et coll., 2002; Davies et coll., 2000; McEvoy et coll., 2000; Gill et coll., 1998a; Galland, 1997). En effet, l'état physiologique et la charge microbienne interne et externe de l'animal sont des déterminants importants de la qualité microbiologique finale de la viande (Sheridan, 1998). En fait, la contamination endogène des carcasses concerne les microorganismes hébergés par l'animal de son vivant. Les bovins sont porteurs de microorganismes qui font partir de la flore normale mais peuvent aussi héberger des pathogènes suite à des infections cliniques ou subcliniques (Reid et coll., 2002; Elder et coll., 2000). Plusieurs études ont été conduites pour évaluer la prévalence de certains pathogènes chez les animaux à la ferme. Il a été constaté que, par exemple, 3 à 5% des bovins de ferme hébergent *E. coli* O57:H7 (Cassin, 1998) et que ce taux peut atteindre 50% pendant l'été et au début de l'automne (Elder et coll., 2000). Des études ont révélé que 11,7% des vaches de réforme aux USA abritent dans leur tube digestif des salmonelles (Trout et Osburn, 1997).

Les microorganismes hébergés par les animaux vivants se rencontrent essentiellement sur la peau et dans le système digestif, mais ils sont également présents dans les systèmes respiratoire et urogénital (Bacon et coll., 2002; Beach et coll., 2002; Bacon et coll., 2000; Elder et coll., 2000; Sheridan, 1998, Bell, 1997).

Sur la peau, on peut compter environ 10^4 bactéries/cm² (Galland, 1997). Ce sont pour la plupart des *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, des moisissures et levures qui sont associés à la flore normale, et également des germes fécaux et du sol qui souillent la fourrure par contact (Gustavson et Borch, 1993). Il faut noter que les germes fécaux et du sol sont adhérents à la surface des poils, de la peau, au niveau des sabots et sont transportés jusqu'à l'abattoir (Beach et coll., 2002; Galland, 1997; Corrier et coll., 1990). Parmi ces microorganismes présents dans les fèces, il est possible de rencontrer des bactéries pathogènes pour l'homme tels *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Clostridium perfringens* et *E. coli* O157:H7 (Beach et coll., 2002; Sofos et coll., 1999a, 1999c; Bell, 1997).

Les parasites externes portés par l'animal pendant son transport à l'abattoir peuvent constituer une autre source de contamination microbienne entre les animaux d'un même lot (Galland, 1997). Une étude récente a révélé que la transmission de *E. coli* sérotype O157:H7 pouvait être assurée par des insectes (Rasmussen et Casey, 2001).

La contamination endogène des carcasses via le tube digestif est occasionnée aussi bien par les saprophytes et par les pathogènes hébergés par des porteurs sains (Reid et coll., 2002; Siragusa et coll., 1998; Galland, 1997; Charlebois et coll., 1991). Il a été constaté que la fréquence de contamination augmente avec la fatigue et le stress survenu au cours du transport (Seidler et coll., 2001). La durée du transport, le nombre d'arrêts ainsi que la densité animale dans un convoi agissent sur le développement des pathogènes chez les animaux vivants (Grau et coll., 1968; Brownlie et Grau, 1967). La privation d'aliments ou le jeûne avant et pendant le transport influe sur la croissance des pathogènes potentiels dans le rumen et augmente l'excrétion fécale de ces bactéries (Galland, 1997; Dickson et Frank, 1993; Brownlie et Grau, 1967). Des études ont démontré une augmentation dans l'excrétion de salmonelles chez les vaches consécutive au transport des animaux vers l'abattoir (Corrier, 1990). Au cours du transport, le risque de contamination croisée demeure possible entre les porteurs et non porteurs de microorganismes pathogènes dans un même lot (Gay et coll., 1994). Il faut noter aussi que les fluides biologiques infectés tels les urines, le lait, le mucus, le sang qui se sont répandus sur la robe peuvent

constituer une autre source de contamination croisée entre des animaux d'un même lot (Galland, 1997).

1.1.2 Facteurs extrinsèques

La contamination endogène des carcasses est rare. Les tissus des animaux, à l'exception des tissus nodaux, sont en général stériles (Huffman, 2002). La contamination des carcasses est souvent le résultat d'une mauvaise manipulation lors des processus d'éviscération et de déshabillage (Guyon et coll., 2001; Bell, 1997; Charlebois et coll., 1991). En effet l'abattage des animaux constitue un point critique dans la contamination des tissus. Le niveau de contamination pendant l'abattage se situe entre 10^2 à 10^5 ufc/cm², dépendamment du niveau d'hygiène de l'abattoir (Sofos et coll., 1999c; Galland, 1997).

1.1.2.1 Contamination due au processus d'abattage

L'abattage est un processus qui se déroule en plusieurs étapes. En bref, les animaux sont d'abord étourdis dans la salle d'abattage, puis succède la saignée. Après, on enlève la tête et la peau, étapes suivies par l'éviscération. Ensuite la carcasse est divisée en deux moitiés pour faire suite aux étapes de parage, de lavage, puis à la pasteurisation et à l'inspection sanitaire. Ces étapes exposent le tissu aux microorganismes de son environnement (Rozier et coll., 1985). Pendant l'étourdissement, les animaux sont susceptibles de souiller le plancher avec leurs fèces, les poussières et les fluides biologiques qui y sont déversés. Pendant la saignée, le couteau peut introduire les microorganismes de la peau à la surface du muscle ou à l'intérieur des tissus (Gill et coll., 1998a; Gill et McGinnins, 1999). Toutefois, les études de Rheault et Quessy (1999) réalisées chez le porc ont montré que les plaies de saignée ne constituent pas une source importante de contamination par les microorganismes pathogènes comme *Salmonella* et *E. coli* chez cette espèce. L'enlèvement de la tête peut laisser échapper des fluides infectés qui peuvent être à l'origine d'une contamination (Galland, 1997). L'enlèvement de la peau constitue l'étape la plus critique de la contamination de la carcasse (Sheridan, 1998; Gill et coll., 1998a). Les bactéries sont introduites dans les tissus avec l'incision initiale (Lawrie, 1998). D'autres transferts de microorganismes à la surface de la carcasse sont réalisés par les aérosols et les poussières générées par la peau pendant son

enlèvement (Sofos et coll., 1999c; Sheridan, 1998; Galland, 1997). Parfois, il y a rupture d'abcès qui libèrent des pathogènes. Les germes peuvent être également introduits par contact avec les mains du personnel et par contact de la peau avec le tissu exposé (Sheridan, 1998). Le dépouillement représente l'étape cruciale dans la contamination du muscle. Il a été constaté une corrélation positive de 57% entre les *E. coli* entéro-hémorragiques présents sur la peau avant abattage et ceux retrouvés sur la carcasse après abattage (Elder et coll., 2000). Pendant l'éviscération les microorganismes peuvent être introduits à la surface de la carcasse suite à une mauvaise manipulation (Galland, 1997). La contamination est réalisée avec la rupture du contenu ruminal et intestinal. De même, pendant la séparation de la carcasse en deux moitiés il y a risque de contamination croisée si la scie n'est pas adéquatement stérilisée après la coupe de chaque carcasse (Sheridan, 1998).

1.1.2.2 Facteurs environnementaux

En dehors des microorganismes hébergés par l'animal, d'autres facteurs peuvent contribuer grandement à augmenter le risque de contamination des carcasses à l'abattoir. La contamination exogène des carcasses peut être provoquée par le personnel d'abattoir, les planchers, les murs et le matériel utilisé pour le déshabillage (Galland, 1997). Le personnel d'abattoir peut être des agents responsables de la contamination des carcasses. Par leurs mains, suite au contact de matières souillées telles les fèces et les ingestats, et par leurs vêtements sales, ils peuvent transmettre la contamination d'une carcasse à une autre (Legg et coll., 1999; Rozier et coll., 1985). Les porteurs asymptomatiques sont aussi des sources potentielles de contamination dans les abattoirs (Bell, 1997).

Aussi, il a été démontré que les instruments (gants, scies) utilisés pour l'abattage et le déshabillage constituent également des étapes critiques dans la contamination des carcasses par *E. coli* (Guyon et coll., 2001) et les autres pathogènes. En effet, l'équipement du personnel, comme les gants en mailles d'acier utilisés dans les abattoirs, est souvent mal nettoyé. De même, les équipements fixes servant à débiter les carcasses sont souvent impossibles à nettoyer adéquatement (Gill et coll., 1998a). Plusieurs de ces facteurs de contamination de la carcasse peuvent être contrôlés par l'application des modèles HACCP.

L'eau, le sol, l'air, et les matières organiques peuvent servir de véhicule pour la transmission de maladies alimentaires. L'eau utilisée comme agent nettoyant dans le traitement des carcasses peut également jouer un rôle important dans la contamination de celles-ci si elle est souillée (Rozier et coll., 1985). Il a été démontré que l'eau peut être le principal réservoir de *E. coli* O157 dans l'environnement de l'abattage (Lejeune et coll., 2001). Le sol peut servir de véhicule pour des agents pathogènes comme le *Clostridium botulinum* et *Listeria monocytogenes*. L'air contaminé constitue également une source de contamination des carcasses à l'abattoir (Jericho et coll., 2000b). En effet, les aérosols contaminent les carcasses au cours du processus de déshabillage, notamment pendant l'enlèvement de la peau. Les intoxications alimentaires aux staphylocoques sont en grande partie dues à de l'air contaminé. Les toux, les éternuements sont des voies privilégiées de dissémination de ces pathogènes (Rozier et coll., 1985).

2 Localisation de la contamination

Les comptes bactériens associés à la contamination des carcasses à l'abattoir peuvent varier de 10^2 à 10^5 microorganismes ufc/cm² (Galland, 1997). Les parties situées près de la fente d'éviscération et l'encolure sont les plus souillées. Viennent ensuite la face postérieure de la cuisse et celle de l'épaule (Rozier et coll., 1985). La contamination en profondeur des muscles est très faible, car ils sont protégés par des revêtements adipeux et des aponévroses assurant ainsi une barrière de protection contre les microorganismes. Par contre les ganglions sont souvent contaminés et peuvent être le point de départ d'une dissémination dans les tissus avoisinants (Rozier et coll., 1985).

3 Attachement des bactéries à la surface des carcasses

L'attachement des microorganismes à la surface des carcasses constitue la première étape dans la contamination du muscle (Benedict, 1988; Firstenberg, 1981). L'attachement des bactéries à la surface de la carcasse peut être faible et réversible ou fort et irréversible selon les mécanismes mis en jeu lors de l'adhérence. L'attachement faible est associé à des forces de Van der Waals ou à d'autres facteurs

physicochimiques (Marshall et coll., 1971). La population microbienne initiale est l'un des facteurs qui influence ce type d'attachement. L'attachement fort à la surface de la carcasse met en jeu des structures de la membrane extracellulaire connues sous le nom de glycocalyx (Costerson et coll., 1981). Certaines structures du glycocalyx de nature protéique (fimbriae ou pili communs) permettent l'attachement des bactéries sur les cellules du muscle. Les fimbriae et les adhésines jouent également un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries et représentent les premières structures mises en jeu par ces microorganismes pour coloniser les cellules de l'hôte.

En plus de la densité microbienne, d'autres facteurs comme le type de surface, la viscosité, la phase de croissance en particulier la phase exponentielle, la température, et la motilité peuvent aussi influencer l'attachement à la surface du muscle (Chung et coll., 1989; Butler et coll., 1979).

4 Constitution de la flore retrouvée sur la carcasse

4.1 La flore saprophyte d'altération

La grande majorité des microorganismes qui contaminent les carcasses ne représentent aucun danger potentiel pour les consommateurs. Par contre, ils sont responsables de l'altération du produit (Lawrie, 1998). La flore d'altération retrouvée sur la carcasse est consécutive à la contamination initiale et dépend des caractéristiques de la carcasse et de l'environnement d'entreposage. En condition aérobie et à une température supérieure à 15°C, les mésophiles, groupes dans lesquels on retrouve la quasi-totalité des pathogènes, prédominent sur les carcasses. Par contre, les microorganismes d'altération sont représentés par les bactéries psychrotrophes. Cette flore est dominée en grande partie par les *Micrococcaceae*, *Corynebacterium*, *Cinetobacter*, des *Pseudomonas*, des *Enterobacteriaceae* et des *Brochotrix thermosphacta* (Gustavson et Borch, 1993). Cependant, en condition aérobie, les *Pseudomonas* tendent à prédominer sur les autres espèces alors que *Brochotrix thermosphacta* domine en milieu anaérobique. Néanmoins, la composition finale de la flore d'altération peut être influencée par la proportion des microorganismes spécifiques présents dans la population initiale (Lawrie, 1998).

4.2 La flore pathogène

Les bactéries pathogènes peuvent être présentes sur la carcasse, parfois en quantité non détectable par les méthodes conventionnelles de culture. La prévalence de certains pathogènes sur les carcasses de boeuf varie d'une étude à l'autre et peut être influencée par le niveau d'hygiène de l'abattoir étudié. Les principaux pathogènes associés aux carcasses de bœuf sont les colibacilles pathogènes dont *E. coli* O157:H7, les salmonelles, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*. La viande bovine est reconnue comme le principal véhicule de la transmission des *E. coli* pathogènes de sérotypes O157 (Cassin et coll., 1998). Par contre, les *Salmonella* sont responsables de plus de 48% des cas d'intoxications liés à la consommation de la viande de bœuf aux Etats-Unis (Trout et Osburn, 1997).

5 Développement des microorganismes dans les carcasses

Le développement des microorganismes dans les carcasses est en général contrôlé par des facteurs intrinsèques et des facteurs extrinsèques qui sont influencés par la contamination initiale.

5.1 La contamination initiale des carcasses

La colonisation et le développement des microorganismes à la surface de la carcasse dépendent de la contamination initiale. L'étude quantitative de la contamination montre que la phase de latence est plus courte si le nombre initial de microorganismes est élevé (Rozier et coll., 1985). Les altérations de la carcasse apparaissent dans un délai qui dépendra en grande partie du niveau de la contamination finale. Plus la quantité de microorganismes retrouvés sur la carcasse est faible plus le temps d'altération de la viande est long. Ainsi, la viande de bœuf stockée à 5°C, et ayant une charge bactérienne initiale de 10^5 microorganismes par cm^2 est altérée en 6 jours, alors que pour 10^2 microorganismes par cm^2 la contamination apparaît après 16 jours (Lawrie, 1998). Sur le plan qualité, dans une population mixte, l'espèce quantitativement prédominante sur la carcasse dès le départ risque de l'emporter par la suite sur les autres espèces et, par conséquent, constituera la flore prédominante (Rozier et coll., 1985).

5.2 Facteurs intrinsèques

Le développement des microorganismes dans les carcasses est influencé par des compétitions interspécifiques (espèces différentes) et intraspécifiques (espèces apparentées). Pour un petit nombre de microorganismes, la croissance microbienne adopte une courbe exponentielle qui sera modulée par la baisse des éléments nutritifs et l'accumulation de substances toxiques sur le support alimentaire (Lawrie, 1998; Rozier et coll., 1985). Lorsque la croissance est maximale, pour une température létale donnée, la destruction des microorganismes à la surface de la carcasse prend une allure exponentielle. La vitesse de destruction des microorganismes augmente avec la température. La résistance des microorganismes à la température varie suivant leur nature psychrophile, mésophile, thermophile. Les microorganismes sont plus sensibles à la destruction durant la phase exponentielle. De même, la thermorésistance augmente avec la germination des spores pour les bactéries sporulantes (Rozier et coll., 1985).

L'étude de la croissance et de la survie des microorganismes pathogènes dans la viande a été évaluée en présence de la microflore normale. Cette dernière inhibe ou ralentit de façon significative le développement des pathogènes (Berry et Koohmaraie, 2001). Certains chercheurs pensent que l'augmentation des contaminations dues à *Listeria* dans les aliments est probablement liée à la destruction de la flore normale, dont l'absence profite au développement de ce pathogène capable de survivre à certaines températures de pasteurisation (Doyle et coll., 2001).

5.3 Facteurs extrinsèques

Les principaux facteurs environnementaux qui agissent sur le développement des microorganismes dans les carcasses sont la température, l'humidité, le potentiel d'oxydoréduction, le potentiel d'hydrogène (pH) et la présence de substances inhibitrices. Seul, chacun des facteurs est important, mais leurs effets combinés déterminent généralement les conditions dans lesquelles le développement des microorganismes présents à la surface de la carcasse est favorisé.

5.3.1 Température

La température est le facteur le plus important affectant la croissance des microorganismes (Lawrie, 1998). Chaque microorganisme a la possibilité de se développer dans une gamme donnée de températures, caractérisée par une limite inférieure, un optimum et une limite supérieure au-delà de laquelle à quelques degrés près la mort survient (Rozier et coll., 1985). À basse température la survie des microorganismes est plus ou moins longue. D'une façon générale, l'optimum thermique, qui correspond à la température idéale de croissance des microorganismes, est proche de la limite supérieure. Selon leur température optimale de développement, les microorganismes sont classés en 4 groupes. Les psychrophiles ont leur température optimum entre -2°C et 7°C , les psychrotrophes entre 25 et 30°C , les mésophiles entre 10° et 40°C et les thermophiles de 43° à 66°C (Rozier et coll., 1985). Les principaux microorganismes thermophiles sont des *Clostridium*, *Bacillus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Les mésophiles ont le plus souvent une origine humaine ou animale, les homéothermes, ayant des températures internes dépassant les 32°C , outre de constituer un support alimentaire, leur offrent un environnement idéal de développement. La quasi-totalité des pathogènes des oiseaux et des mammifères sont des mésophiles. Les psychrotrophes, regroupant des bactéries d'altération et d'intérêts technologiques, sont représentés essentiellement par des bactéries à Gram-négatif anaérobie, *Pseudomonas* en particulier, mais aussi par des cocci et bâtonnets à Gram-positif et autres Gram-négatif, levures et moisissures. Les psychrophiles, d'origine marine, n'offre aucun intérêt en microbiologie des viandes (Lawrie, 1998; Rozier et coll., 1985).

Sur une population composée de nombreuses espèces microbiennes, la température agira en sélectionnant les espèces en fonction de leur optimum thermique, en accélérant ou ralentissant le développement global. À leur optimum thermique, les espèces psychrophiles et psychrotrophes ont une vitesse de croissance nettement plus faible que celle des mésophiles, qui est elle-même plus faible que celle des thermophiles (Rozier et coll., 1985).

5.3.2 L'humidité

L'eau compte pour 80 à 90% du poids des cellules vivantes et est essentielle à la croissance des organismes vivants. Le niveau de croissance d'un microorganisme

est déterminé par la quantité d'eau disponible et non la quantité d'eau présente laquelle comprend aussi l'eau emprisonnée dans les liaisons chimiques (l'eau liée). Cette disponibilité est en rapport avec la pression osmotique et oncotique, le point cryoscopique, le point d'ébullition, la teneur en NaCl, la teneur en sucre, etc. (Lawrie, 1998; Rozier et coll., 1985). L'eau détermine des échanges de vapeur avec l'atmosphère environnant. Ce phénomène est plus global et reflète bien l'état de l'eau vis-à-vis des microorganismes. Elle est reflétée par l'activité de l'eau exprimée en a_w qui varie de 0 à 1 (Rozier et coll., 1985).

Considérant le comportement des microorganismes vis-à-vis de l' a_w , ils sont classés en hygrophiles, mésophiles et xérophiles. Les microorganismes hygrophiles se développent bien pour des a_w comprises entre 0,995 et 0,980. En dessous de 0,980, la phase de latence s'allonge, la vitesse de croissance exponentielle diminue et le nombre de microorganismes décroît progressivement. À partir d'une valeur de 0,950, la phase de latence tend vers l'infini (Rozier et coll., 1985). Les *Pseudomonas* et les bactéries à Gram-négatif aérobies sont les plus hygrophiles. Les mésophiles ont leur a_w minimale située entre 0,85 et 0,90, alors que leur croissance se produit pour toutes les valeurs supérieures. Il faut citer *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Vibrio* ainsi que *Staphylococcus aureus* (Rozier et coll., 1985). Les microorganismes xérophiles se développent rapidement dans les conditions de déshydratation du support alimentaire. Ils utilisent l'humidité de l'air et une hygrométrie élevée les favorise. Ce sont les levures et surtout les moisissures. Les microorganismes osmophiles sont capables de se développer si la pression osmotique est élevée. Ils sont plus spécialement tolérant au sucre par exemple les levures. Les microorganismes halophiles sont incapables d'évoluer dans un milieu dépourvu de sel (Rozier et coll., 1985).

Les microorganismes réagissent à une baisse de l' a_w par accumulation d'ions K^+ , d'acides aminés et de polyols qui sont des protecteurs de l'activité enzymatique. La survie des microorganismes en deçà des a_w minimales est plus ou moins longue. Elle diminue avec l'acidité et l'élévation de température. Les spores résistent bien aux valeurs basses qui par ailleurs augmentent leur résistance (Rozier et coll., 1985).

Pour le produit ou le support alimentaire ou la pièce de viande, l' a_w est un paramètre très important qui influence la valeur marchande du produit dans le temps.

5.3.3 Le potentiel d'hydrogène (le pH)

La concentration en ions hydrogènes des aliments représente l'un des facteurs les plus importants affectant le développement des microorganismes (Lawrie, 1998). Cette concentration est normalement exprimée en terme de pH qui est défini comme le logarithme de l'inverse de la concentration en ions hydrogènes. Comme pour la température il existe pour chaque espèce de microorganisme, un pH minimum, un pH optimum et un pH maximum. Ainsi, en fonction des pH optima, on distingue des microorganismes acidophiles (Lactobacilles, Streptocoques lactiques, levures, moisissures), des microorganismes neutrophiles dont leur pH est voisin de la neutralité, des microorganismes basophiles dont la croissance n'est pas ralentie par des valeurs supérieures à 7 (*Clostridium* et *Bacillus*) (Rozier et coll., 1985).

L'action du pH dépend de la possibilité du microorganisme à contrôler la concentration en ions H^+ de son milieu interne. La survie des bactéries en dessous de leur pH minimum est plus ou moins longue et dépend de l'acide ou des acides en présence et de l' a_w (Rozier et coll., 1985). Le pH des viandes n'est que peu protecteur vis-à-vis du pH optimal de croissance des bactéries d'altération (5,5-7,5) lesquelles constituent les espèces prédominantes sur les carcasses.

5.3.4 Le potentiel d'oxydoréduction (E_h)

L'oxydation correspond à la perte d'un électron. Quand une substance est oxydée, une autre est réduite, c'est-à-dire qu'elle gagne un électron. La mesure et l'équilibre permettent de se rendre compte si le système est oxydant ou réducteur. C'est le E_h ou potentiel redox dont les valeurs varient de $-500mV$ pour les milieux oxydants à $-600mV$ pour les milieux réducteurs (Rozier et coll., 1985). Un milieu riche en oxygène est oxydant. L'oxygène peut venir de l'air ou de certaines substances telles les nitrates. Le potentiel redox agit sur le métabolisme des microorganismes. Suivant leur besoin en oxygène, les microorganismes sont classés en : aérobies, anaérobies, aéro-anaérobies et microaérophiles (Rozier et coll., 1985). La tension de l'oxygène dans le muscle est consécutive à la déshydrogénation par les microorganismes des substrats carbonés, utilisés comme la principale source d'énergie. Le type respiratoire est déterminé par le récepteur final de l'oxygène.

Après la mort, les processus respiratoires créent une diminution de l'oxygène dans les muscles causant ainsi une baisse du potentiel d'oxydoréduction (E_h). La

réduction brutale du E_h du milieu de concert avec la température initiale de la carcasse (38°C) crée un environnement idéal pour la croissance des anaérobies. Les microorganismes prédominants sont *Clostridium* spp., en particulier *C. putrefaciens* dont la croissance libère des produits indésirables comme le H_2S et le NH_3 (Rozier et coll., 1985). Le processus de putréfaction peut être évité par la réfrigération rapide des carcasses avant la baisse significative du E_h , ce qui empêchera la croissance des anaérobies dont certains comme le *C. perfringens* et le *C. botulinum* sont responsables de cas de toxi-infections alimentaires parfois mortels (Lawrie, 1998).

6 Les modèles pour évaluer la qualité hygiénique des carcasses

6.1 La flore aérobie mésophile totale

Les mésophiles sont des microorganismes qui croissent et se reproduisent à des températures modérées allant de 10 à 50°C. Toutefois, leur croissance optimale se situe entre 25 et 39°C. Ces microorganismes représentent la majorité des microorganismes terrestres y compris les pathogènes des mammifères et de l'homme (Rozier et coll., 1985). De ce fait, on utilise ces bactéries comme des indicateurs pour évaluer le degré de contamination bactérienne globale des viandes (Siragusa et coll., 1998; Lasta et coll., 1992; Stolle, 1988; Roberts et coll., 1980) et, aussi, comme méthode de contrôle de la qualité hygiénique des carcasses à l'abattoir ou à l'usine de transformation (Gill et coll., 1996c). Néanmoins, la flore aérobie mésophile totale ne peut pas être utilisée pour évaluer la présence de pathogènes spécifiques dans les carcasses (Smoot et Pierson, 1997; Gill et coll., 1996c). Cela est dû au fait que la détection de la flore aérobie mésophile totale repose sur des données quantitatives et non qualitatives.

6.2 La flore aérobie psychrotrophe totale

La flore aérobie psychrotrophe est représentée par les microorganismes d'altération de la viande. La détection de la flore aérobie psychrotrophe totale est utilisée par certains chercheurs pour classer les abattoirs selon leur niveau d'hygiène (Lasta et coll., 1992). Initialement, la microflore d'altération des carcasses est représentée par des espèces variées telles *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Micrococcus* spp., *Flavobacterium* spp., *Moraxella* spp., *Psychrobacter* spp., *Enterobacteriaceae* et les levures (Gustavsson et Borch, 1993). Par contre, en

condition aérobie, cette flore est dominée en grande partie par les *Pseudomonas*, notamment *P. fluorescens* et *P. fragi*, alors que les bactéries lactiques ainsi que *Brochothrix thermosphacta* prédominent en condition anaérobie (Gustavsson et Borch, 1993). Les *Pseudomonas* spp. représentent, à elles seules, plus de 50% de la flore d'altération retrouvée sur les carcasses, après une période de 24 heures de réfrigération en aérobiose (Russel, 1996; Gustavsson et Borch, 1993).

La flore d'altération constitue une infime partie de la flore aérobie totale qui est décelée sur les carcasses fraîches, avant réfrigération. Le nombre des bactéries composant la flore d'altération augmente avec le temps de stockage réfrigéré et leur activité métabolique détermine la durée de vie du produit (Gustavsson et Borch, 1993).

6.3 La flore aérobie thermorésistante

Il s'agit de la flore qui résiste à la chaleur et qui peut être apportée par les matières fécales des animaux lors d'une éviscération défectueuse, les mains des ouvriers ou de l'environnement. Ainsi, cette flore permet d'apprécier l'importance de la contamination pendant l'abattage qui est occasionnée par des conditions hygiéniques déficientes (Dennaï et coll., 2001).

6.4 Les coliformes totaux et fécaux

Les coliformes sont des microorganismes faisant partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ces microorganismes renseignent sur l'état de fraîcheur de la carcasse et aussi sur les conditions hygiéniques de l'abattage. La présence de coliformes fécaux suggère une probabilité élevée de présence d'organismes d'origine fécale y compris de pathogènes entériques, contrairement aux coliformes totaux qui comprennent aussi bien des organismes d'origine fécale que non fécale ou même environnementale (Dennaï et coll., 2001; Smoot et Pierson, 1997).

6.5 Les *E. coli* génériques

Les *E. coli* sont des coliformes qui vivent dans les intestins des animaux et de l'homme. En conséquence, les *E. coli* non pathogènes sont considérées comme les meilleurs indicateurs pour évaluer la contamination fécale des carcasses à l'abattoir. Aussi, ces bactéries représentent les meilleurs indicateurs pour évaluer ou prédire la

présence éventuelle de pathogènes entériques sur les carcasses (Dennaï et coll., 2001; Gill et coll., 1996c).

6.6 Les *Salmonellas* spp.

Ce sont des *Enterobactériaceae* qui sont pathogènes pour les humains et plus rarement pour les animaux. Les salmonelles retrouvées sur les carcasses sont les résultats d'une contamination fécale survenue pendant l'éviscération ou d'une contamination croisée due aux mauvaises conditions hygiéniques et de l'environnement de l'abattage (Sofos et coll., 1999a, 1999b; Gill et coll., 1998b; Rahkio et Korkeala, 1997). La recherche et le contrôle de salmonelles sont très importants puisque la viande qui parvient aux consommateurs ne doit pas contenir de salmonelles.

6.7 Les *Listeria* spp.

Les *Listeria* sont des bactéries ubiquistes qui peuvent être présentes aussi bien sur les animaux que dans l'environnement des abattoirs. Leur présence sur les carcasses, en général, témoigne d'une contamination environnementale. Ce genre comporte des espèces pathogènes pour les animaux et l'homme dont *Listeria monocytogenes* est généralement incriminée dans des épisodes de toxi-infections alimentaires (Faber et coll., 1996). La recherche des *Listeria* est devenue importante puisque ce pathogène alimentaire est reconnu avoir une croissance à la température d'entreposage.

7 Technologie de décontamination des carcasses bovines

7.1 Réduction *ante-mortem*

7.1.1 Effets de diète

Des recherches ont été conduites sur l'effet de l'alimentation et la nutrition animale dans l'excrétion des bactéries pathogènes susceptibles d'être retrouvés par la suite sur les carcasses. Diez-Gonzales et coll. (1998) ont démontré qu'une ration de diète à base de grain contribuait à réduire l'excrétion fécale des *E. coli* acido-résistantes. Par contre, Tkalcic et coll. (2000) ont démontré que des vaches, nourries, respectivement, avec des fourrages et des concentrés et, préalablement infectées avec

la bactérie *E. coli* O157, ne présentait aucune différence ni dans le nombre de bactéries excrétées dans leurs fèces ni dans la durée de l'excrétion des dites bactéries.

7.1.2 Exclusion concurrentielle

C'est une méthode qui consiste à utiliser les propriétés que possèdent certaines bactéries saprophytes à prévenir ou réduire la colonisation de l'intestin par les bactéries pathogènes. L'administration d'organismes probiotiques à des bovins avant de les exposer par l'eau de boisson à des *E. coli* O157 a entraîné une réduction au niveau du portage intestinal de cette bactérie (Zhao et coll., 1998). D'autres recherches conduites *in vitro* ont démontré le potentiel d'une protéine spécifique, la Colicine E2 à inhiber la croissance des souches de *E. coli* O157 (Murinda et coll., 1996). Il a été démontré en condition expérimentale que certains ingrédients alimentaires ont la capacité à prévenir la colonisation du rumen par les bactéries *E. coli* O157, mais ces résultats doivent être confirmés en conditions terrain (Huffman, 2002). Les organismes probiotiques constituent une voie alternative aux composés chimiques qui, peuvent avoir à long terme des effets indésirables pour la santé des consommateurs.

7.1.3 Traitement de l'eau potable

L'eau de boisson, distribuée aux animaux avant l'abattage, peut constituer une source de contamination des animaux si elle est contaminée. Il a été démontré que l'eau de boisson distribuée aux animaux avant l'abattage constituait l'un des réservoirs majeurs de *E. coli* O157 dans l'environnement des abattoirs (Lejeune et coll., 2001). Le traitement de l'eau de boisson par chloration à une dose de 1,1 ppm avec un temps d'exposition de 45 minutes a contribué à l'inactivation de 4 log ufc/ml d'*E. coli* O157 (Rice et coll., 1999), préalablement dilués dans l'eau de boisson. Ainsi, ces résultats suggèrent qu'un traitement efficace de l'eau de boisson pourrait diminuer considérablement l'incidence de certaines bactéries pathogènes sur les carcasses lorsqu'une contamination est suspectée.

7.1.4 Administration de chlorate

Des chercheurs ont rapporté que l'administration de chlorate de sodium à des porcs a permis de réduire la concentration intestinale des bactéries *E. coli* O157 et

Salmonella Typhimurim inoculées expérimentalement. Aussi, ils ont rapporté une réduction dans les *E. coli* génériques chez les groupes contrôle (Anderson et coll., 2001). Ces résultats indiquent que les chlorates peuvent contribuer à réduire le portage intestinal des bactéries pathogènes et, par conséquent, elles concourent grandement à diminuer la contamination des carcasses par d'éventuels pathogènes entériques.

7.1.5 Autres technologies

D'autres recherches sont actuellement en cours pour trouver un vaccin capable d'empêcher la colonisation du colon par certains pathogènes comme *E. coli* O157 (Dean-Nystrom et coll., 2002; Potter, 2000). D'autres recherches prônent l'utilisation de bactériophages, comme prédateurs naturels de certains pathogènes, non seulement pour contrôler la contamination des carcasses, mais également pour améliorer la sécurité microbiologique de celles-ci (Huffman, 2002). Les bactériophages représentent une voie d'avenir en matière de lutte contre les microorganismes pathogènes, étant donné que certains pathogènes ont développés des résistances multiples aux antibiotiques généralement utilisés pour traiter les infections bactériennes chez les animaux et les humains.

7.2 Techniques de décontamination *post-mortem*

7.2.1 Parage

Le parage est un procédé de décontamination de la carcasse qui consiste à enlever les matières fécales visibles. Cette méthode a été évaluée par bien des études. Certains auteurs considèrent le parage comme un procédé efficace qui permet de réduire la charge microbienne de la carcasse (Phebus et coll., 1997). Par contre, d'autres chercheurs ont démontré l'inefficacité de cette technique (Gill et coll., 1996c), car elle dépend de l'habilité de l'employé à repérer les sites contaminés et des conditions sanitaires des couteaux utilisés au niveau des sites de parage (Phebus et coll., 1997). Il arrive même que les coupes effectuées pour enlever les déchets soient à l'origine de la contamination du muscle (Galland, 1997). Il faut également signaler que le parage est une méthode utilisée en prélude à d'autres méthodes d'action antimicrobiennes, telles la pasteurisation ou le lavage à l'acide.

7.2.2 Dépilage chimique

Cette méthode qui consiste à épiler avec des substances chimiques les carcasses avant le dépouillement a été élaborée par Bowling et Clayton (1992) pour éliminer les poils, les boues, les matières fécales et autres contaminants externes. Ce procédé utilise deux applications au sulfite de sodium et au peroxyde d'hydrogène et un rinçage à l'acide acétique. Le dépilage chimique a été évalué dans un établissement d'abattage de bovins par Schnell et coll. (1995). Les résultats ont montré que la dépilation chimique contribuait à réduire les contaminations visibles de la carcasse et le nombre de parage a été également diminué. Par ailleurs, d'autres études ont rapporté que le dépilage chimique a entraîné une réduction dans la charge des pathogènes initialement présente à la surface des carcasses (Castillo et coll., 1998c; Graves-Delmore et coll., 1997).

7.2.3 Rinçage à l'eau chaude

C'est un procédé de décontamination de la carcasse qui consiste à appliquer une douche d'eau chaude d'au plus 74°C. Plusieurs auteurs ont rapporté une réduction dans les comptes totaux, les coliformes totaux et les *E. coli*, lorsque l'eau chaude a été utilisée pour assainir les carcasses (Gill et coll., 1999; Kelly et coll., 1981, Barkate et coll., 1993; Gorman et coll., 1995; Acuf et coll., 1996). Castillo et coll. (1998a) soutiennent que la décontamination des carcasses à l'eau chaude pourrait avoir des avantages par rapport à l'utilisation des produits chimiques, incluant une plus grande élimination des formes végétatives des pathogènes tels *Salmonella* spp. et *E. coli* O157:H7. Par contre, d'autres chercheurs prétendent que certains facteurs, tels l'application hétérogène de l'eau chaude ainsi que l'échappement au traitement de certaines bactéries à travers les pores et les surfaces creuses de la carcasse, pourraient favoriser l'apparition de souches bactériennes thermorésistantes (Nutsch et coll., 1997 et 1998; Gill et Bryant, 1997a).

7.2.4 Vapeur sous-vide

La vapeur sous-vide est un procédé de décontamination localisé qui utilise la vapeur. La vapeur est appliquée sur des sites visiblement contaminés de la carcasse. Cette méthode, selon Dorsa et coll. (1996a), est très efficace car elle permet une réduction de la charge microbienne d'environ 2-3 log. De même, Kochevar et coll.

(1997) ont rapporté des réductions dans les comptes de la flore totale et des coliformes totaux de 1,1-2,3 et 1,2-2,2 \log_{10} ufc/cm², respectivement, pour des contaminations initiales de 4,6-5,1 et 2,9-3,2 \log_{10} ufc/cm². Toutefois, ce procédé ne peut pas être employé seul et doit être utilisé avec d'autres méthodes de décontamination telles la pasteurisation et les traitements chimiques.

7.2.5 Lavage à l'acide

Le lavage à l'acide est l'une des techniques utilisées pour décontaminer les carcasses à l'abattoir. Les acides organiques agissent en abaissant le pH de la carcasse et affectent les microorganismes qui y sont présents. Ils pénètrent à l'état non dissocié dans la cellule et interfèrent avec le métabolisme microbien en tant que produits intermédiaires ou terminaux. Ils peuvent être à l'origine d'une élévation interne excessive de la concentration en ions hydrogènes chez les microorganismes présents sur les carcasses (Rozier et coll., 1985). Plusieurs auteurs ont rapporté une diminution dans les comptes de la flore aérobie totale, lorsque le traitement à l'acide a été utilisé pour décontaminer les carcasses (Castillo et coll., 1998b). Par ailleurs l'apparition de souches bactériennes résistantes est observée. C'est le cas de *E. coli* O157:H7 dont la résistance aux acides organiques a été rapportée dans plusieurs études (Samelis et coll., 2001; Doyle et coll., 1997).

7.2.6 Pasteurisation à la vapeur

La pasteurisation à la vapeur consiste en un traitement thermique utilisant la pression de vapeur pour assainir les carcasses. Cette technique a été évaluée par Nutsch et coll. (1998) et Phebus et coll. (1997) dans des situations différentes. Selon ces auteurs, la pasteurisation à la vapeur présente bien des avantages par rapport aux traitements à l'eau chaude, incluant une moindre utilisation d'eau et d'énergie. Néanmoins, la pasteurisation à la vapeur demande de grands investissements et est appliquée après le lavage des carcasses. En dépit des coûts d'installation considérables, cette technologie est en plein essor, ce qui a occasionné l'apparition de nombreux prototypes de pasteurisateurs plus ou moins adaptés aux besoins des abattoirs. Toutefois, leur efficacité réelle mérite d'être évaluée dans un contexte industriel d'abattage.

8 Les pathogènes bactériens étudiés

8.1 *Listeria monocytogenes*

8.1.1 Description

Le genre *Listeria*, constitué de bactéries très répandues dans le milieu extérieur, compte actuellement six espèces dont *Listeria monocytogenes* est la principale pathogène pour l'homme (Adams et Moss, 2000). Ce sont des bactéries à Gram-positif, non acido-résistantes, non capsulées, non sporulées, anaérobies facultatives mais se cultivant mieux en aérobiose et mobiles lorsqu'elles sont cultivées à 20-28 °C. Le %G + C est compris entre 36 et 42, le peptidoglycane de type A1 gamma contient de la glucosamine en plus de l'acide N-acetylmuraminique et du N-acéthylglucosamine (Martin et Fisher, 2000).

8.1.2 Propriétés antigéniques

Les *Listeria* sont classées selon leurs caractéristiques antigéniques. Actuellement, on recense 15 antigènes somatiques (antigènes O) (notés de I à XV) et 5 antigènes flagellaires (antigènes H) (de A à E). On compte présentement 13 sérovars de *Listeria monocytogenes* (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e et le sérovar 7) dont trois d'entre eux (les sérovars 1/2a, 1/2b et 4b) sont responsables de 95% des cas de listériose chez l'homme (Martin et Fisher, 2000).

8.1.3 Caractères cultureux

Il est possible de cultiver les *Listeria* spp. sur des milieux classiques tels une gélose nutritive ou une gélose au sang. En général, ce sont des bactéries psychrotrophes avec un optimum thermique compris entre 30 et 37°C, mais la croissance est possible pour des températures allant de 1 à 45°C et certaines souches de *Listeria monocytogenes* peuvent même se développer à des températures légèrement inférieures à 0°C (Martin et Fisher, 2000). Le pH optimal est de 7 ou légèrement alcalin, mais la croissance est obtenue pour des pH compris entre 5,6 et 9,6 (Martin et Fisher, 2000). Les *Listeria* spp. sont halotolérants et toutes les souches peuvent être cultivées en présence de 10% (p/v) de NaCl. La valeur optimale de l' a_w est de 0,97, mais la croissance est possible pour une a_w de 0,943 (Adams et Moss, 2000).

8.1.4 Pourvoir pathogène

Listeria monocytogenes a été isolé pour la première fois lors d'une épidémie observée chez des lapins et des cobayes de laboratoire (Martin et Fisher, 2000). Par la suite, des infections ont été décrites, dans pratiquement tous les pays, chez plus de 40 espèces d'animaux domestiques et sauvages ainsi que chez l'homme (Hof, 2003; Martin et Fisher, 2000). Chez l'homme, les infections à *Listeria monocytogenes* sont connues depuis 1920 et elles s'observent essentiellement chez les femmes enceintes, les nouveau-nés contaminés par leurs mères et les immunodéprimés (Adams et Moss, 2000). Les personnes âgées et les immunodéprimés sont considérés comme faisant parti des sujets à risque (Hof, 2003; Rocourt et Cossart, 1997). La contamination des adultes se fait le plus souvent par voie digestive suite à l'ingestion d'aliments contaminés ou par une infection endogène liée à un portage intestinal. Les symptômes de la listériose humaine se traduisent, le plus souvent, par des septicémies ou des atteintes du système nerveux central (Kathariou, 2002). D'autres symptômes cliniques ont été décrits tels les gastro-entérites, les endocardites, les arthrites, les péritonites, les avortements survenant le plus souvent au troisième trimestre de grossesse (Adams et Moss, 2000; Rocourt et Cossart, 1997).

8.1.4.1 Étapes de l'infection et facteurs de virulence

Les facteurs de virulence de *Listeria monocytogenes* ont été décrits dans de nombreuses études. Lors des infections, les cellules M des plaques de Peyer et les entérocytes, sont les premiers sites d'invasion privilégiés par les bactéries. On pense que, pour initier l'attachement, les résidus α -D-galactose de la surface bactérienne se lient aux récepteurs α -D-galactose des cellules intestinales (Martin et Fisher, 2000; Rocourt et Cossart, 1997). Les flagelles peuvent être un important facteur de virulence du fait qu'ils facilitent la mobilité de la bactérie vers les sites d'infection. Après avoir franchi la barrière intestinale, les bactéries sont phagocytées par les macrophages de la *lamina propria* dans lesquels elles survivent et se multiplient. Par la suite, les bactéries gagnent la lymphe et le courant sanguin et infectent le foie et la rate. Dans ces organes, la plupart des bactéries sont détruites sous l'action des neutrophiles aidés par les cellules de Kupffer. Les microorganismes qui survivent infectent les cellules, notamment les hépatocytes et les macrophages, puis ils sont disséminés par voie sanguine et gagnent le cerveau ou l'utérus chez la femme

enceinte où ils pénètrent la barrière hémato-encéphalique et placentaire (Rocourt et Cossart, 1997). Une série de facteurs de virulence intervient à chaque étape du processus d'invasion de la bactérie à l'intérieur des cellules eucaryotes. Les gènes qui codent pour la majorité de ces facteurs de virulence se regroupent sur la même région du chromosome et sont régulés par le *prfA*.

Les *Listeria* adhèrent et envahissent les cellules eucaryotes par l'intermédiaire de leur protéine membranaire nommée l'internaline. Il existe deux types d'internaline : InlA et InlB qui sont codées respectivement par les gènes *InlA* et *InlB*. Le récepteur de InlA est une molécule d'adhésion cellulaire, la E-cadhérine. Les entrées dépendantes de InlB nécessitent l'activation de la phosphoinositide 3-kinase de la cellule hôte (Schubert et coll., 2002). Une fois phagocytée, la bactérie est emprisonnée dans une vacuole. Alors, la listériolysine O (une hémolysine codée par le gène *hly*) se fixe sur le cholestérol de la vacuole de phagocytose et la lécithinase lyse celle-ci (Kathariou, 2002). La bactérie libre dans le cytoplasme de la cellule se multiplie et s'encapsule dans des petits filaments d'actine. La formation de la queue d'actine est sous la dépendance du gène *ActA* qui code pour la protéine ActA. Ces filaments se polymérisent et forment une structure en forme de queue de comète. Quand elle atteint la membrane cytoplasmique, elle engendre la formation d'une protusion qui est pinocytosée par une cellule adjacente (Martin et Fisher, 2000). La bactérie est alors enfermée dans une vacuole double membrane qui est lysée grâce à la phospholipase C dont les gènes *plcA* et *plcB* codent respectivement pour phosphatidyl-inositol-specific phospholipase C (PI-PLC) et phosphatidylcholine-specific phospholipase C (PC-PLC). La phospholipase C est synthétisée sous la forme d'un précurseur qui doit être clivé par un métalloprotéase codée par le gène *mlp* (Ryan et coll., 2002). La bactérie est de nouveau libre dans le cytoplasme de cette nouvelle cellule et elle peut recommencer son cycle de multiplication (Martin et Fisher, 2000). Cette colonisation progressive des tissus cibles échappe aux mécanismes de défense immunitaire humorale. Si la bactérie s'attaque aux hématies, son activité est définie comme hémolytique. Cette activité est due à la listériolysine (exotoxine thiol dépendante). Seules les *Listeria* pathogènes sont hémolytiques.

De plus, *Listeria monocytogenes* peut avoir des molécules de surface comme l'I.S.A. (immuno suppressive activity) qui suppriment la capacité des lymphocytes de la rate à former des anticorps contre les antigènes homologues. Il existe aussi des

molécules de surface M.P.A. (Monocytosis producing activity) qui jouent un rôle dans l'adhésion aux cellules intestinales. Le gène *prfA* augmente la virulence de *Listeria monocytogenes* puisqu'il code pour un activateur de la transcription du gène *hly* (codant pour la listériolysine O) et de l'opéron lécithinase. Tous les gènes de virulence sont soumis à une régulation par le gène *prfA*. Ces gènes s'expriment mieux à 37°C et en phase exponentielle de croissance (Rocourt et Cossart, 1997). D'autres composantes de surface ont été décrites et participeraient à la pénétration dans des cellules eucaryotes. La protéine p60 est une muréine hydrolase (enzyme qui, en coupant le peptidoglycane, est essentielle à la multiplication bactérienne) et les mutants qui sont incapables de la synthétiser ont une virulence réduite et pénètrent mal dans des fibroblastes. La protéine ActA, essentielle à la mobilité intracellulaire, pourrait également participer au pouvoir invasif car des mutants *actA* sont incapables de pénétrer dans des cellules Caco-2 ou Vero (Jaradat et Bhunia, 2003; Portnoy et coll., 2002). Une protéine sécrétée, de 30 kDa, dénommée Irp (Internalin related protein), présente des analogies avec les protéines InlA et InlB et pourrait être impliquée dans les mécanismes de pénétration (Cossart, 1998). L'alpha-D-galactose, présent à la surface des bactéries, intervient dans la fixation sur des cellules de la lignée HepG2 (cellules d'hépatocarcinome humain) et facilite la pénétration dans les cellules dendritiques (Coward et coll., 1990). Une protéine de surface de 55,3 kDa est capable de se lier à la fibronectine et permettrait une adhésion aux cellules (Gilot et coll., 1999; Cossart, 1998). La fibronectine est associée à de très nombreuses cellules et cette adhésion pourrait constituer un stade préliminaire à la pénétration proprement dite en facilitant l'interaction des protéines InlA, InlB, p60 avec leurs récepteurs spécifiques (Cabanès et coll., 2002; Rocourt et Cossart, 1997).

8.1.5 Épidémiologie

Listeria monocytogenes est une bactérie ubiquiste et résistante dans l'environnement. La bactérie peut être retrouvée dans le sol, les ensilages, les fèces, les végétaux et l'eau. Elle est fréquemment présente dans le tractus digestif de nombreuses espèces animales telles les bovins, les porcins, les volailles y compris l'homme (Rocourt et Cossart, 1997).

Les premiers cas de listériose ont été décrits chez l'homme dans les années 1960. Toutefois, les liens avec les aliments ont été établis à partir de 1980 où l'on a

enregistré les premières anadémies (Adam et Moss, 2000). Outre les anadémies, la transmission alimentaire est bien documentée pour un certain nombre de cas sporadiques dont on estime qu'environ 33% ont une origine alimentaire. (Rocourt et Cossart, 1997).

La dose infectante pour l'homme n'est pas connue avec certitude. Elle varie avec le statut immunitaire des individus et la virulence de la souche, mais les aliments incriminés contiennent généralement plus de 10^3 *Listeria monocytogenes* par gramme et, dans la majorité des cas, ils en renferment plus de 10^6 par gramme (Rocourt et Cossart, 1997).

Au Canada la prévalence de l'infection est faible (9.1 cas par million d'habitants) (Anonyme, 2001), mais le taux de mortalité atteint 20 à 30% du fait que les infections se développent chez les sujets immuno-supprimés. La listériose humaine est présente dans les pays industrialisés mais elle est quasiment absente des pays en voie de développement (Rocourt et Cossart, 1997).

8.2 *Escherichia coli*

8.2.1 Description

Escherichia coli est une bactérie à Gram-négatif, non sporulant, anaérobie facultative faisant parti de la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette bactérie a été isolée pour la première fois en 1885 par un scientifique allemand Theodor Escherich dans les fèces des enfants (Adams et Moss, 2000). Depuis, une bonne part de l'attention scientifique se fixe sur *E. coli*, qui est probablement le microorganisme le plus connu qui soit (Schaechter, 2001). Cette bactérie fait partie de la flore normale des hommes et des animaux homéothermes. La majorité des souches sont inoffensives pour l'homme. Cependant, certaines souches, pourvues de facteurs de virulence, sont pathogènes et sont susceptibles de causer des infections intestinales et extra-intestinales chez les humains et les animaux (Vallance et coll., 2002; Caya et coll., 1999).

Les souches de *E. coli* qui causent des infections intestinales sont classées dans des groupes spécifiques basés sur leurs attributs de virulence, leur pathogénicité, leurs syndromes cliniques et leurs sérogroupes distincts. Ces groupes ou pathotypes comprennent : les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entérotoxigènes (EPEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), les *E. coli*

entérohémorragiques (HEEC), les *E. coli* entéro-aggrégants (EAggEC) et les *E. coli* diffusio-adhérents (DAEC). Les souches causant des infections extra-intestinales sont représentées par les UPEC (Uropathogenic *E. coli*) et les NMEC (Neonatal meningitidis *E. coli*).

8.2.2 Propriétés antigéniques

Les souches de *E. coli* sont classées selon leurs propriétés antigéniques. Actuellement on compte 174 antigènes somatiques de nature lipopolysaccharidique (LPS) (antigènes O), 56 antigènes flagellaires de nature protéique (antigènes H), 103 antigènes capsulaires de nature polysaccharidique (antigènes K) et une vingtaine d'antigènes de type fimbriae ou pili (Antigènes F) (Doyle et coll., 1997). Les antigènes O sont des lipopolyosides complexes de la membrane externe des *E. coli*. La spécificité antigénique O est donnée par les séquences répétitives de polyoside. Les antigènes capsulaires sont représentés principalement par des polyosides acides et ont été initialement divisés en trois types A, B ou L. La diversité antigénique des flagelles dépend de celle de la protéine de base, la flagelline. Quelques souches ne développent pas d'antigènes H et sont dites non mobile ou H-. Quant à l'antigène F, il s'agit d'une structure filamenteuse d'origine protéique qui joue un rôle dans l'adhésion de la bactérie aux surfaces des épithéliums de l'hôte (Nougayrede et coll., 2003). On utilise le terme sérotype quand les deux antigènes sont identifiés. Si l'antigène H n'est pas identifié, on parle de sérogroupe.

8.2.3 Caractères cultureux

E. coli n'est pas difficile à cultiver, il croît facilement sur des milieux de culture ordinaires tels une gélose au sang. Il donne des colonies rouges sur gélose au désoxycholate. Elles produisent des colonies de plus de 0,5 mm en 48 h à 30 ou 37°C. La bactérie fermente le lactose et produit de l'indole, fermentation mise en évidence par la production de gaz (Adams et Moss, 2000).

E. coli est de type mésophile, la bactérie croît de 7-10°C jusqu'à 50°C avec un optimum près de 37°C. Cependant, certains pathovars continuent à croître en dessous de 4°C. Un pH voisin de la neutralité est optimal pour la croissance qui peut continuer en dessous de 4,4 dans des conditions optimales. L'activité de l'eau minimale nécessaire pour la croissance est de 0,95 (Adams et Moss, 2000).

8.2.4 Pourvoir pathogène

8.2.4.1 Les infections

E. coli est à l'origine de nombreuses infections tant opportunistes que spécifiques. Il est responsable de la majorité des infections urinaires, surtout chez la femme. Dans ce cas *E. coli* est porteur d'hémolysines et présente des pili. Chez l'enfant, l'infection est souvent liée à une malformation congénitale de l'arbre urinaire (Ronald, 2002). Les infections touchant l'appareil digestif sont à l'origine de péritonite et de cholécystite difficile à traiter par les antibiotiques. *E. coli* est responsable de septicémies, des infections génitales autant chez l'homme que la femme et des méningites chez le nouveau né.

Les infections spécifiques touchent les intestins en provoquant des diarrhées par des mécanismes multiples selon les types. Les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC) sont responsables de la diarrhée chez les jeunes enfants par épidémie. Les EPEC sont responsables de lésions « attachant et effaçant » en adhérant à la surface des microvillosités de la muqueuse intestinale (Doyle et coll., 1997). Les *E. coli* entéro-toxigéniques (ETEC) sont à l'origine de la diarrhée du voyageur et du nourrisson. Les ETEC produisent deux toxines : les ST (thermostable) et les LT (thermolabile). Les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) peuvent produire ou non des toxines. Ils peuvent pénétrer dans les entérocytes et provoquer une diarrhée. Ils sont rapprochés taxonomiquement des *Shigella*. Les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) sont caractérisées par des sérogroupes qui produisent des shigatoxines ou vérocytotoxines, des facteurs d'adhérence et des entérohémolysines comme les sérogroupes O111 et O157. Les EHEC provoquent des diarrhées hémorragiques pouvant donner un syndrome hémolytique et urémique et pouvant entraîner une insuffisance rénale (Doyle et coll., 1997). On observe des crampes abdominales, de la fièvre, des vomissements. Ces souches produisent une toxine particulière nommée vérotoxine qui a une action sur les endothéliums des capillaires et sur les globules rouges (Doyle et coll., 1997). Les *E. coli* entéro-adhérents (EAEC) provoquent de la diarrhée chez les nourrissons dans les pays en voie de développement. On trouve également les LAEC (localised adherent *E. coli*) qui provoque des diarrhées non sanguinolentes chez les enfants, les DAEC (diffusely adherent *E. coli*) et les EaggEC (Entero-aggregative *E. coli*). Les UPEC (Uropathogenic *E. coli*) provoquent des cystites, des pyélonéphrites et bactériurie plus souvent chez les femmes. Les NMEC

(Neonatal meningitidis *E. coli*) sont responsables pour environ 80% des cas de méningites néonatales (Doyle et coll., 1997).

8.2.4.2 Les facteurs de virulence

8.2.4.2.1 Les facteurs d'adhésion

Les fimbriae sont les facteurs d'adhésion les plus étudiés chez *E. coli*. Les fimbriae sont généralement des structures de 5 à 7 nm de diamètre mais peuvent être plus fins avoisinant un diamètre de 4 nm. Le pouvoir adhésif est localisé soit au sommet du fimbriae soit le long de la structure en hélice (La Ragione et coll., 2000). Les P fimbriae ont à leur sommet un complexe de fibrilles présentant l'adhésine PapG au récepteur spécifique (Gal(alpha-1-4) Gal) (La Ragione et coll., 2000). Quelques fimbriae comme CFA/I, K88 et K99 sont constitués entièrement d'une seule sous-unité. Dans CFA/I seule une sous-unité située au sommet présente un site récepteur tandis que K88 et K99 ont des sites récepteurs multivalents sur toute leur longueur. Les récepteurs des adhésines et des fimbriae tendent à être près des récepteurs de nature osidique rendant les adhésines très spécifiques. L'épitope, partie du récepteur osidique, est fréquemment décrit comme incapable de porter la stéréospécificité du fimbriae. Les sites récepteurs pour un certain nombre de ces fimbriae ont été étudiés en détail tels P, K88, K99. Ainsi une spécificité a été établie pour chacun des récepteurs en fonction des espèces : CFA est associé à l'homme, K88 aux porcs et K99 aux bovins (La Ragione et coll., 2000; Doyle et coll., 1997).

Les pili jouent un rôle majeur dans l'adhérence des *E. coli* aux cellules de mammifères et peuvent être la première étape dans l'extension des pathogènes. L'intimine, protéine de la membrane externe, provoque l'attachement de *E. coli* aux cellules épithéliales et joue un rôle important dans les infections à EHEC ou EPEC. Après l'adhésion initiale souvent lâche par les pili, un signal de transduction provoque la phosphorylation des protéines des cellules hôtes augmentant la concentration intracellulaire de calcium et d'inositol-triphosphates causant l'effacement des microvillosités. L'intimine est un produit d'un gène chromosomique *eaeA* (*eae* = EPEC attaching effacing), dont la présence est un facteur important de virulence des EPEC et EHEC. La phosphorylation des tyrosines des protéines de la cellule hôte sous l'effet de l'intimine provoque la réorganisation du cytosquelette, en particulier les filaments d'actine (Doyle et coll., 1997).

8.2.4.2.2 Les toxines

Escherichia coli élabore des toxines de différents types. Les entérotoxines sont classés en deux types, les thermostables (ST) et les thermolabiles (LT). Les entérotoxines stables à la chaleur produites par certains ETEC sont de plusieurs types. D'abord, on distingue les Heat Stable Enterotoxin STI (Sta) qui sont de deux types : STIa et STIb. Les deux ont un poids moléculaire proche de 2000 kDa et sont résistantes à 100°C pendant 15 minutes, hydrosolubles, résistantes aux enzymes protéolytiques et acido-résistantes. Elles agissent en élevant le niveau de GMPc de la cellule qui accélère l'augmentation de la sécrétion des fluides par suite de l'inhibition des ions Na⁺ et Cl⁻. Les Heat Stable Enterotoxin STII accélèrent la sécrétion des ions HCO₃⁻ (Batt, 2000, Gyles, 1994). Les EaggEC Heat Stable Enterotoxin 1 (EAST1) produites par les entéro-aggrégatifs sont de faible poids moléculaire et sont à l'origine des diarrhées infantiles. Elles ont une homologie structurale avec STI. Les gènes qui codent pour ces entérotoxines sont plasmidiques. Les Heat Labile Enterotoxin (LT) produites par certains ETEC sont de deux types les LT-I et les LT-II. Elles agissent en augmentant le niveau de AMPc qui cause une augmentation de sécrétion de Cl⁻, perturbant ainsi l'absorption des ions Na⁺, les effets osmotiques entraînent l'eau avec les ions, ce qui se manifeste par une diarrhée profuse (Gyles, 1994). Les Shigatoxines (Stx) ou vérotoxines (VT) qui sont produites par les EHEC et d'autres organismes vérotoxino-gènes sont représentées par deux familles : les VT1 qui sont très proches des toxines élaborées par *Shigella dysenteriae* et les VT2. On rencontre également d'autres toxines comme les CLDT (cytolethal distending toxin) qui causent des diarrhées chez le porc et les humains, les CNF (cytotoxic necrotizing factors) isolées des cas de diarrhée humaine, de porcs et de bovins. Les Vir cytotoxines sont à l'origine de septicémies chez les ovins et les bovins. La plupart des groupes produisent des hémolysines extracellulaires comme la alpha-hémolysine la bêta-hémolysine et l'entérohémolysine (Batt, 2000).

8.2.5 Épidémiologie

Les infections à *E. coli* sont très largement répandues à travers le monde. Toutefois, les infections à *E. coli* O157:H7 sont plus fréquentes en Amérique du Nord. Les bovins constituent des réservoirs importants de *E. coli* O 157:H7 (Dean-Nystrom et coll., 1997). La viande de bœuf est la source principale de contamination

due aux EHEC (Chapman, 2000). Toutefois, des produits, comme la saucisse, le lait cru, les jus non pasteurisés et le cidre de pomme sont à l'origine de nombreuses toxi-infections contractées par l'homme par la suite de consommation de ces produits préalablement contaminés (Doyle et coll., 1997). L'infection peut également résulter d'une contamination fécale de l'eau et de divers aliments, ou d'une contamination croisée au cours de la préparation d'un plat. Les hamburgers, le jus de pommes frais, les yaourts, le fromage, le salami séché et salé et le maïs bouilli sont des exemples d'aliments impliqués lors de flambées épidémiques de *E. coli* O157:H7 (Doyle et coll., 1997). Cette souche survit et se multiplie également dans les légumes en salade. La transmission est possible par l'eau contaminée utilisée pour la consommation ou pour un usage récréatif (Doyle et coll., 1997). Le contact de personne à personne constitue un autre mode important de transmission par l'intermédiaire de la voie oro-fécale (Doyle et coll., 1997). Il existe des porteurs asymptomatiques, capables de contaminer les aliments et d'autres personnes.

8.3 *Salmonella* spp.

8.3.1 Introduction

Le rôle de *Salmonella* dans les intoxications alimentaires a été documenté pour la première fois dans les années 1800, mais les symptômes cliniques de la typhoïde datent de bien avant. La bactérie a été isolée pour la première fois par Salmon en 1885 chez les porcs. Depuis plusieurs souches ont été isolées et incriminées dans l'explosion des toxi-infections alimentaires (Cox, 2000).

Les *Salmonella* appartiennent à la grande famille des *Enterobacteriaceae*. Basé sur des tests biochimiques et physiologiques, à l'origine le genre était classé en 5 sous-groupes et par la suite en 7 sous-groupes désigné par I, II, IIIa, IIIb, IV, V et VI. Actuellement après analyse par des techniques modernes basées sur hybridation ADN-ADN, le genre est considéré constituer de 2 espèces : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. Il y a 6 sous-espèces de *S. enterica*, le plus important est *S. enterica* subsp. *enterica* qui comprend les bacilles de la typhoïde et paratyphoïde et la plupart des sérotypes responsables des cas d'infection d'origine alimentaire chez l'homme (Cox, 2000).

8.3.2 Morphologie

Les *Salmonella* sont des bactéries à Gram-négatif, non sporulantes, qui se présentent sous forme de bacilles de 0,7-1,5 µm de diamètre à 2-5 µm de longueur. Elles sont mobiles, à l'exception des sérotypes Pullorum, Gallinarum et Arizonae, grâce à des flagelles péritriches. La plupart produisent des fimbriae de type 1 associés à des propriétés adhésives mannose-sensibles. Ces fimbriaes sont composés de sous-unités de fimbrilline contenant une forte proportion d'acides aminés hydrophobes. Certains sérotypes tels Enteritidis et Typhimurium produisent de fins fimbriaes (<3 nm de diamètre) dont la présence rend la bactérie O agglutinable. Sur gélose XLD, les colonies typiques sont roses avec ou sans centre noir. Les colonies atypiques sont jaunes avec ou sans centre noir (Cox, 2000).

8.3.3 Propriétés biochimiques

En conditions aérobie et anaérobie, les salmonelles croissent rapidement sur les milieux ordinaires, produisant des colonies indifférenciables des autres *Enterobacteriaceae*. Les composés simples de carbone peuvent être utilisés comme sources de carbone et d'énergie et une grande variété de composés nitrogenés est utilisée comme source d'azote. La majorité des salmonelles sont prototrophes et croissent sur un milieu pauvre en sel avec une source de carbone convenable. Les souches auxotrophes ont une spécificité d'hôte restreinte et croissent sur un milieu minimal supplémenté avec des facteurs de croissance (Cox, 2000). Les *Salmonella* sont oxydase négatives et catalase positives. Elles fermentent le glucose, le maltose, le mannitol, l'arabinose, le xylose, le rhamnose, le sorbitol, le dulcitol et l'inositol avec production d'acide et de gaz. Une réponse positive est notée pour les tests au rouge de méthyle, la décarboxylation de la lysine et de l'ornithine, l'utilisation du citrate. La plupart des salmonelles donnent une réaction positive pour la production de H₂S sur gélose aux trois sucres et au fer (TSI, Triple Sugar Iron). Une réponse négative est obtenue pour des tests Voges-Proskauer, indole, uréase, lactose, sucrose, raffinose et adonitol.

8.3.4 Propriétés antigéniques

Actuellement les *Salmonella* comprennent plus de 2400 sérotypes caractérisés selon leurs antigènes de surface. Selon le modèle de Kauffman-White,

on distingue des antigènes O somatiques de nature lipopolysaccharidique (LPS), des antigènes H flagellaires de nature protéique et des antigènes Vi capsulaires. Il existe un autre type d'antigènes appelés antigènes H ou fimbriae commun à tous les sérotypes (Cox, 2000). Les chaînes latérales lipopolysaccharidiques sont composées d'unités répétées d'oligosaccharides comprenant une grande variété de sucres y compris des heptoses rares tels abéquose et tybéllose. Chaque sérotype est déterminé par un antigène O particulier et chaque antigène distinct est dénoté par un nombre; pour les sérotypes A, B, C et D, respectivement, les antigènes O2, O4, O6 et O9 sont identiques (Cox, 2000). À l'intérieur des sérotypes, les souches sont aussi différenciées en sérovars, basées sur les variations des flagellines ou des antigènes H (Schaechter, 2001; Cox, 2000).

8.3.5 Caractères culturels

Les *Salmonella* croissent dans une large gamme de températures allant de 7 à 48°C, l'optimum se situe tout près de 37°C. Les salmonelles survivent très bien à basse température. Toutefois le temps de survie dépend du substrat et des facteurs tels le pH et l' a_w . Les salmonelles exigent une a_w au dessus de 0,93 avec un optimum de 0,995. Leur pH optimum est compris entre 6,5 à 7,5 (Cox, 2000). Sous conditions spéciales, elles prolifèrent en dessous de 4°C et peuvent résister à des pH inférieurs à 4 (Cox, 2000). En conditions aérobie comme anaérobie, les *Salmonella* croissent très bien en milieu ordinaire.

8.3.6 Pourvoir pathogène

8.3.6.1 Les infections

Les *Salmonella* sont responsables de deux types de syndromes distincts, décrits comme des gastro-entérites et des infections systémiques. Les infections systémiques sont couramment associées à certaines souches ou sérovars qui ont une spécificité d'hôte très étroite, c'est le cas de *Salmonella* Dublin chez les bovins, *S. Pullorum* chez les volailles, *S. Typhi*, Paratyphi et Sendai chez les humains. Les infections systémiques sont caractérisées par de longues périodes d'incubation, une faible dose infectieuse généralement associée à des gastro-entérites, des symptômes extra-intestinaux, particulièrement de la fièvre et, plus couramment des portages asymptomatiques consécutifs à une infection aiguë (Schaechter, 2001).

Les syndromes gastro-entérites, plus fréquemment associés à des transmissions alimentaires, débutent après une période d'incubation de 7 à 24 heures. Après ingestion, les salmonelles, ayant survécu à l'acidité de l'estomac, colonisent et envahissent les cellules épithéliales, et les cellules M des plaques de Peyer. Les fimbriae mannose-sensibles et mannose-résistants et les produits du gène *inv* facilitent l'attachement à ces cellules. D'autres produits du gène *inv* stimulent l'accumulation intracellulaire des ions calcium, la perméabilité de la membrane, la formation des filaments d'actine et l'endocytose des cellules bactériennes. Les salmonelles dans la vacuole endocytotique migrent passivement du pôle apical au pôle basal de la cellule hôte, où elles sont libérées dans la *lamina propria*. La production des entérotoxines stimulent la production de l'AMPc dans la cellule hôte, entraînant un déséquilibre des électrolytes et une accumulation de fluides. L'inflammation de la *lamina propria*, résultant d'une libération de prostaglandine, peut accentuer l'influx de fluides à la lumière intestinale (Cox, 2000).

La maladie, qui persiste généralement quelques jours, est caractérisée par une fièvre légère, des douleurs abdominales et des diarrhées parfois sanguinolentes, des nausées et des vomissements. Le taux de mortalité est relativement faible, il varie entre 0,1 à 5%; cependant, les conséquences économiques peuvent être considérables (Schaechter, 2001).

8.3.6.2 Les facteurs de virulence

8.3.6.2.1 Lipopolysaccharide (LPS)

Les études des LPS de souches différentes de différents sérovars ont démontré que, la longueur des chaînes latérales O, le degré de glycosylation et la taille des produits jouent un rôle majeur dans la virulence des Salmonelles (Cox, 2000). Les longues chaînes latérales gênent drastiquement la capacité des composantes du système de cascade du complément à se lier à la surface de la cellule des salmonelles, empêchant ainsi leur lyse. En plus, la composition des chaînes latérales influent beaucoup sur la virulence, particulièrement sur la capacité à causer des infections invasives, car différents déterminants des sérogroupes réagissent différemment avec les composantes C5 à C9 de la cascade du complément (Cox, 2000).

8.3.6.2.2 Fimbriae

Les salmonelles produisent des fimbriae qui interviennent dans leur adhésion à la cellule hôte. Les fimbriae de type 1, mannose-sensibles sont synthétisés par la plupart des sérovars de *Salmonella*. Ils sont connus sous le nom de SEF. Les fimbriae SEF17, originalement décrits chez *S. Enteritidis*, ont été identifiés chez une grande majorité des sérovars, aussi bien chez les souches de *E. coli* diarrhéogènes. Ces fimbriae extrêmement hydrophobes et agrégatifs se lient fortement aux fibronectines, ce qui indique leur rôle dans l'adhésion. SEF17 active également le plasminogène, directement et indirectement par l'induction du système d'activation du tissu plasminogène de l'hôte, ce qui suggère son rôle dans la dissémination du microorganisme. D'autres fimbriae peuvent être recensés parmi les salmonelles, certains sont largement distribués parmi les souches, d'autres, comme le SEF14, sont restreints à un petit groupe de sérovars (Cox, 2000).

8.3.6.2.3 Toxines

Les entérotoxines sont produites par plusieurs souches de salmonelles. Elles représentent le facteur de virulence responsable du début des symptômes diarrhéiques. Les entérotoxines montrent une similitude entre la cholératoxine, consistant en 2 sous-unités A et B qui agissent respectivement en stimulant l'adénylate cyclase de la cellule hôte et favorisant la formation de pores pour faciliter l'entrée dans les cellules. L'augmentation de la concentration de AMPc permet une entrée massive d'ions sodium et de chlore et par conséquent une accumulation de fluides dans la lumière intestinale (Schaechter, 2001).

8.3.6.2.4 Sidérophores

L'acquisition de fer est cruciale pour la survie et la croissance des microorganismes durant l'infection. Les salmonelles produisent deux types de sidérophores : entérobactine ou entérocheline et aérobactine. L'entérobactine est un phénolate composé de trimère cyclique d'acide dihydrobenzoïque et de lysine. L'aérobactine est un hydroxamate qui est synthétisé à partir de molécules de citrate et des dérivés de lysine. L'aérobactine et l'entérobactine captent les ions ferriques de l'environnement (lumière intestinale, sérum). Les ions ferriques sont ensuite transportés par le biais des protéines membranaires vers le cytoplasme où ils sont

réduits en ions ferreux, lesquels sont libérés du sidérophore. Les souches productrices d'entérobactine sont en général plus virulentes que celles productrices d'aérobactine (Cox, 2000).

8.3.6.2.5 Autres facteurs de virulence

Une série de gènes, dont les produits ou les fonctions n'ont pas été entièrement élucidés, sont associés en certains points du chromosome et sont nommés îlots de pathogénicité. Une série de 15 gènes, localisée sur la région *inv*, est présente dans ces îlots et est nécessaire à l'invasion des cellules épithéliales. Les produits de ces gènes sont responsables des premiers assemblages des cellules, y compris l'engloutissement et l'assemblage des cellules épithéliales et la translocation à la surface des cellules bactériennes au point d'attachement. D'autres régions du chromosome encodent des facteurs nécessaires à la survie intracellulaire : le locus *oxyR* encode des protéines protectrices contre les produits oxygénés toxiques des macrophages, alors que le système de régulation *phoP/phoQ* est nécessaire pour l'expression des facteurs permettant la survie dans les cellules phagocytées (Cox, 2000)

Les produits des gènes régulateurs tels les facteurs sigma jouent aussi un rôle dans la pathogénicité. Le facteur sigma RpoH, responsable de la régulation des protéines de choc thermique (HSP, heat shock proteins), est exprimé durant la croissance intracellulaire. Le facteur sigma RpoS est aussi fortement exprimé à l'intérieur des cellules, et il semble réguler les facteurs cytotoxiques (Schaechter, 2001; Cox, 2000).

8.3.6.2.6 Plasmides

Des sérovars de *Salmonella* tels Choleresuis, Dublin, Enteritidis, Pullorum et Typhimurium possèdent des plasmides sérovar-spécifiques (SSP, serovar-specific plasmids) de la taille 30 à 60 MDa, connus sous le nom de plasmides de virulence de *Salmonella* ou région *spv* (*Salmonella* plasmid virulence). La région contient au moins 5 gènes *spvRABCD*. Les produits des gènes *spvABCD* semblent favoriser la multiplication intracellulaire et la dissémination systémique (Schaechter, 2001; Cox, 2000).

8.3.7 Épidémiologie

Le réservoir principal des *Salmonella* est le tractus intestinal des animaux domestiques et sauvages et des humains infectés. Les salmonelles sont excrétées dans les fèces et peuvent demeurer viables durant plusieurs années dans le milieu extérieur. La principale source d'infection à salmonelles est l'ingestion d'aliments et d'eau contaminés. Les aliments d'origine animale, tels le bœuf, le porc et les volailles constituent les principales sources d'infections à salmonelles pour les humains. Néanmoins, la contamination par les salmonelles est aussi réalisée par contact soit d'homme à homme ou d'animaux à l'homme par l'intermédiaire de la voie oro-fécale (D'Aoust, 1997).

La dose infectieuse est comprise entre 10^3 et 10^8 mais dépend en grande partie de la virulence de la souche et de la nature du substrat alimentaire. La prévalence de la salmonellose chez les humains au Canada est estimée à 9000 cas par an (Anonyme, 2001).

III- MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

Évaluation de l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur de carcasses bovines pour le contrôle des dangers microbiologiques

**Harold Corantin¹, Sylvain Quessy¹, Marie-Lou Gaucher¹, Louise Lessard²,
Danielle Leblanc³ et Alain Houde³**

¹Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal

²Agence canadienne d'inspection des Aliments (ACIA)

³Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments (CRDA)

Manuscrit à soumettre à la Revue Vétérinaire Canadienne

Résumé

Cette étude, conduite dans un abattoir de bovins, visait à évaluer l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur des carcasses afin de contrôler les dangers microbiologiques. Des prélèvements, effectués par chiffonnage sur des sites aléatoires, avant et après pasteurisation ainsi qu'après réfrigération, ont été réalisés sur les carcasses afin d'évaluer sur plaques Pétrifilms les comptes totaux aérobie (CTA), les coliformes totaux (CCT), les *Escherichia coli* génériques (CEC) et pour déterminer la prévalence de *Salmonella* spp., de *L. monocytogenes* et de *E. coli* O157:H7, en utilisant des techniques d'enrichissement standard. Les isolats de *E. coli* et de *L. monocytogenes* ont été testés pour différents facteurs associés à leur virulence, respectivement, par technique d'hybridation sur colonie et par PCR. La sensibilité et la résistance aux antibiotiques des isolats possédant des facteurs de virulence ont été testées par antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose. Les comptes bactériens pour les CTA, les CCT et les CEC affichaient des valeurs moyennes de 2,18, de 0,16 et de 0,06 log₁₀ ufc/cm² avant pasteurisation, de 1,17, de 0,03 et de 0,01 log₁₀ ufc/cm² après pasteurisation et de 0,89, de 0,02 et de 0,01 log₁₀ ufc/cm² après réfrigération. L'analyse des résultats a montré une réduction significative des indicateurs étudiés, après le traitement à la vapeur. Les prévalences de *L. monocytogenes*, de *Salmonella* spp. et de *E. coli* O157:H7 ont été respectivement de 0,8%, de 0,0% et de 0,0% avant pasteurisation, de 2,6%, de 0,0% et de 0,0% après pasteurisation et de 3,1%, de 0,1% et de 0,0% après réfrigération. Les résultats montrent une faible prévalence des entéropathogènes et une augmentation significative de l'incidence des *Listeria* après traitement. La prévalence des *E. coli* dotés de un ou plusieurs gènes de virulence a été de 14,7% soit 11,9% des isolats obtenus avant pasteurisation, 22,2% des isolats obtenus après pasteurisation et 31,2% des isolats obtenus après réfrigération. Tous les isolats de *L. monocytogenes* se sont avérés positifs pour les trois principaux facteurs de virulence qui ont été testés (*hlyA*, *inlB* et *pclB*). Les antibiogrammes montrent que certains isolats sont sensibles à tous les antibiotiques, certains montrent une sensibilité variable et d'autres sont multirésistants. Ces résultats suggèrent que la pasteurisation à la vapeur représente une technologie efficace permettant de réduire la contamination microbienne et, par conséquent, d'améliorer la qualité hygiénique des

carcasses à l'abattoir. Néanmoins, cette technique comporte le désavantage de favoriser la croissance de certaines bactéries pathogènes comme *L. monocytogenes*.

Summary

The purpose of the study, carried out in a beef processing plant, was to evaluate the effectiveness of a steam pasteurization treatment in controlling microbiological contamination. Samples were taken by swabbing randomly selected sites before and after pasteurization and after chilling to obtain on Petrifilm plates total aerobic counts (TAC), total coliform counts (TCC) and generic *E. coli* (*Escherichia coli*) counts (ECC) and to determine the prevalence of *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* and *E. coli* O157:H7 using standard enrichment techniques. *E. coli* and *L. monocytogenes* strains were tested for various factors associated with their virulence respectively by colony hybridization method and by PCR. Antimicrobial susceptibility was determined for each isolate potentially pathogen to human using disk-diffusion method. Mean values for TAC, TCC and ECC were 2,18, 0,16 and 0,06 log₁₀ cfu/cm² respectively before pasteurization; 1,17, 0,03 and 0,01 log₁₀ cfu/cm² after pasteurization; and 0,89, 0,02 and 0,01 log₁₀ cfu/cm² after chilling. Prevalence of *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *E. coli* O157:H7 on carcasses were respectively 0,8%, 0,0% and 0,0% before pasteurization, 2,6%, 0,0% 0,0% after pasteurization and, 3,1%, 0,1% and 0,0% after chilling. The prevalence of *E. coli* harbouring one or more virulence genes was 14,7%. Namely 11,88% of the isolates obtained before pasteurization, 22,2% of the isolates obtained after pasteurization and 31,2% of the isolates obtained after refrigeration had virulence genes. All of *L. monocytogenes* isolates were found positive for the presence of three major virulence factors (*hlyA*, *inlB* and *pclB*). Antibigrams showed that certain isolates were susceptible to all antibiotics, some showed an intermediate sensitivity and others were multiresistant. Overall, these results suggest that steam pasteurization is an effective means to improve safety quality of beef carcasses. However, pasteurization may promote the growth of some pathogenic microorganisms such as *L. monocytogenes*.

Introduction

Les opérations effectuées pendant l'abattage des bovins, telles la saignée, le déshabillage et l'éviscération, exposent le muscle stérile aux contaminants microbiologiques de la peau, du tube digestif et de l'environnement (1-8). En effet, les processus de déshabillage et d'éviscération des carcasses constituent des points critiques dans la contamination microbienne du muscle pour lesquels des mesures correctives doivent être adoptées (9-13). Bien que la plupart des contaminants microbiens de la carcasse soient inoffensifs, d'autres microorganismes comme *Salmonella* spp., *E. coli* O157 et *Listeria monocytogenes* constituent des menaces potentielles pour la santé du consommateur (14-18).

Par ailleurs, les infections d'origines alimentaires, résultant d'une conséquence directe de la contamination microbienne des aliments, notamment des denrées d'origine animale telles la viande bovine, ont des retombées considérables à la fois sur la santé publique par les mortalités et les morbidités qui en découlent et sur l'économie par les pertes occasionnées par les rappels et les dépenses pour soigner ces infections. Les infections alimentaires sont estimées annuellement, aux USA, à 76 millions de cas de morbidité pour 5,000 décès et engendrent des dépenses de 22 milliards de dollar US (19).

Soucieux de réduire les risques liés à la présence de pathogènes alimentaires sur les carcasses et de diminuer les pertes économiques qui y sont associées, les organismes gouvernementaux tels l'ACIA (Agence Canadienne d'Inspection des Aliments) et le FSIS-USDA (Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture) ont imposé à l'industrie des viandes des mesures de gestion des dangers biologiques telles le système HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) afin de contrôler les points critiques de l'abattage (20). Ainsi plusieurs techniques, incluant des procédés chimiques et thermiques, ont été développées pour améliorer la sécurité microbiologique des carcasses à l'abattoir (21-23). Parmi ces techniques, on peut citer : le lavage à l'acide, le dépilage chimique, la vapeur sous-vide, le parage, la pasteurisation sous-pression à l'eau chaude et la pasteurisation à la vapeur. La pasteurisation à la vapeur des carcasses représente l'une des technologies les plus prometteuses en ce qui a trait à ses effets antimicrobiens (24-27).

Depuis la publication des premiers résultats sur la pasteurisation à la vapeur, les entreprises ont vu apparaître plusieurs nouveaux prototypes de pasteurisateurs plus ou moins adaptés à leurs besoins. Cependant, les résultats microbiologiques obtenus antérieurement pour les modèles expérimentaux ne peuvent être extrapolés à ces nouveaux prototypes et des études additionnelles s'avèrent donc nécessaires pour en documenter l'efficacité.

Les objectifs de cette étude étaient de vérifier l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur des carcasses bovines dans la réduction des microorganismes indicateurs tels la flore aérobie totale, les coliformes totaux et les *E. coli* génériques ou dans le contrôle de certains pathogènes tels *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. et *E. coli* O157:H7, et de mesurer l'effet du traitement à la vapeur sur des paramètres tels le pH et la température intramusculaire. Il s'agissait aussi de vérifier l'effet de la vapeur sur la sélection de certains pathogènes en les caractérisant pour différents facteurs de virulence et aussi de vérifier leur susceptibilité vis-à-vis des agents antimicrobiens usuels.

Matériel et méthodes

Situation de l'étude. Cette étude a été réalisée sur des carcasses de vaches laitières de réforme dans un abattoir sous inspection fédérale situé au Québec. L'abattoir, muni d'un système mécanisé, est équipé pour abattre entre 70 et 95 animaux par heure. L'animal, une fois assommé à l'aide d'un percuteur, est suspendu le long d'une chaîne et se succèdent ensuite la saignée, l'enlèvement de la tête, le déshabillage, la fente, l'éviscération, le parage, le lavage et la pasteurisation à la vapeur. A la sortie du pasteurisateur, les carcasses subissent une douche froide, pénètrent dans la chambre froide et sont soumises à une réfrigération par aspersion. Le pasteurisateur (Riopel inc, Québec), contrairement aux types précédents qui étaient mobiles (25), est constitué d'un cabinet fixe muni d'un carrousel permettant de traiter chaque demi-carcasse de façon individuelle, ce qui rend l'appareil moins encombrant et limite la consommation d'eau.

Échantillonnage. Au cours de ce projet, 3009 échantillons ont été prélevés sur 1003 carcasses afin de réaliser les analyses microbiologiques. Les prélèvements bactériens ont été effectués par chiffonnage sur des sites de 10X10 cm choisis aléatoirement selon une grille de 126 sites établie par Gill et Jones (1999) (5). Les prélèvements obtenus à l'aide de gaze stérile de 5X5 cm ont été placés dans 25 ml d'eau peptonnée tamponnée à 0.1 % (p/v) (Oxoid Inc, Nepean, Ontario). Les échantillonnages ont été réalisés en trois temps soit immédiatement avant pasteurisation (A), immédiatement après pasteurisation (B) et après 24 heures de réfrigération (C). Les prélèvements (A) et (B) ont été effectués au même site d'échantillonnage mais sur chacune des 2 demi-carcasses. Le prélèvement C a été effectué sur un site contigu au site B. Les échantillons ont été gardés à 4°C pendant le transport et les analyses ont été réalisées le même jour.

Analyses microbiologiques. Les échantillons ont été traités pour évaluer la flore totale en aérobiose, les coliformes totaux et les *E. coli* génériques et pour évaluer la prévalence de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. et *E. coli* O157:H7.

Dénombrements bactériens. Les comptes totaux aérobiques (CTA), les comptes en coliformes totaux (CCT) et les *E. coli* totaux (CEC) ont été effectués par

technique d'inoculation sur pétrifilm (3M Canada, Inc., London, Ontario) suivant la méthode AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (AOAC International, Gaithersburg, MD). Brièvement, les pétrifilms ont été ensemencés en utilisant 1 mL de la suspension mère en suivant les indications prescrites par le fabricant. Des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} dans de l'eau peptonée 0,1% (p/v) ont été effectuées pour les comptes totaux. Les pétrifilms ont été ensuite incubés en aérobiose à 35°C pendant 48 heures (méthode AOAC, méthode 990.12 Aerobic Plate Count in Foods) (méthode 991.14 Coliform and *E. coli* Count Plates). Les colonies obtenues ont été dénombrées manuellement à l'aide d'une loupe à grossissement. Les colonies bleues avec du gaz sont comptées pour des *E. coli* et les colonies rouges avec du gaz pour des coliformes. Les résultats ont été rapportés en unité formatrice de colonies (ufc) par cm^2 .

L'identification des *E. coli* isolés à partir des pétrifilms a été confirmée par isolement sur gélose MacConkey (Oxoid Inc., Nepean, Ontario) de 20% des échantillons positifs sélectionnés au hasard et par biotypie en effectuant les épreuves biochimiques suivantes: Voges-Proskauer (VP), citrate, indole, Méthyl-rouge. La confirmation finale a été obtenue par une galerie biochimique API 20E (Biomérieux Canada Ltd, St-Laurent, Montréal) en suivant le protocole du fabricant.

Recherche de *Listeria monocytogenes*. La recherche qualitative de *L. monocytogenes* a été effectuée par la méthode suivante. Brièvement, 5 mL de la suspension mère ont été transférés dans 45 mL de LEB (Listeria Enrichment Broth) (Les Laboratoire Quélab, Montréal, Québec) puis incubés en aérobiose à 30°C pendant 48 heures. Ensuite, 0,10 mL du bouillon LEB a été transféré dans 10 mL de bouillon Fraser modifié (Oxoid Inc, Nepean, Ontario) et incubé à 35°C pendant 24 à 48 heures en aérobiose. Après 24 heures d'incubation, les bouillons ont été vortexés puis réincubés 2 à 6 heures pour être ensuite interprétés : les cultures positives ont été inoculées sur géloses Oxford modifié (Oxoid Inc). Les bouillons négatifs ont été réincubés 24 heures additionnelles, et les cultures positives, inoculées sur Oxford modifié. Ces dernières furent incubées à 35°C 24 à 48 heures. Les colonies suspectes ont été ensemencées sur des géloses TSA-YE sang de cheval (Trypticase-soya agar additionnées d'extrait de levure) (Les Laboratoires Quélab, Montréal, Canada) incubées à 35°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies démontrant de l'hémolyse β

furent soumises au test de mobilité, à l'utilisation des sucres (xylose, rhamnose et mannitol), la coloration de Gram, la recherche de la catalase et l'épreuve de CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson). L'identification finale a été réalisée à l'aide d'un API *Listeria* (Biomérieux Canada Ltd, St-Laurent, Montréal) suivant les directives du fabricant.

Recherche de *E. coli* O157:H7. La recherche qualitative des *E. coli* O157:H7 a été réalisée par la méthode suivante: Brièvement, 10 mL de la suspension mère ont été transférés dans 90 mL de TSB novobiocine (Tryptic Soy Broth) (Fisher Scientific, Nepean, Canada) puis incubés à 42°C pendant 24 heures en aérobiose. L'isolement a été fait en utilisant des géloses MacConkey Sorbitol modifiées (Oxoid Inc) incubées à 42°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies typiques de *E. coli* O157:H7 ont été ensemencées sur bouillon Cellobiose et incubées à 35°C pendant 24 heures. La confirmation a été obtenue par des tests biochimiques (Indole, citrate, méthylrouge, VP) et l'épreuve d'agglutination au latex pour O157 (Difco, Détroit, MI, USA).

Recherche de *Salmonella* spp. La recherche qualitative de *Salmonella* spp. a été réalisée par la méthode suivante : Les gazes ont été transférées dans 25 mL de bouillon nutritif (Oxoid Inc) puis incubés à 35°C pendant 24 heures en aérobiose. Ensuite, un enrichissement en milieu sélectif a été effectué en transférant 1 mL du bouillon dans 9 mL de TBG (Tetrathionate Brilliant Green) (Difco, Détroit, MI, USA) qui a été incubé à 42°C pendant 24 heures en aérobiose. L'isolement a été obtenu sur des géloses BGS novobiocine (Brillant Green Sulfa agar) (Laboratoire Quelab, Montréal, Québec) incubées à 35°C pendant 24 à 48 heures. Les tests biochimiques TSI (Triple Sugar Iron) et urée ont été effectués sur les colonies typiques. Les isolats ont été confirmés par une épreuve d'agglutination avec un antisérum somatique polyvalent (*Salmonella* O Antiserum Poly A-1 & Vi) (Difco, Détroit, MI, USA) et envoyés pour sérotypage au Laboratoire de Santé Canada (Guelph, Ontario, Canada).

Détection des gènes de virulence chez les isolats de *E. coli*. La détection des gènes de virulence chez les isolats de *E. coli* a été effectuée par technique d'hybridation sur colonies suivant des méthodes précédemment décrites par Caya et

coll. (1999) (28). Brièvement, les fragments d'ADN ont été marqués au [α - 32 P]dCTP en utilisant une trousse d'amorces polyvalentes (Amersham Pharmacia biotech, Uppsala, Suède) conformément aux directives du fabricant. Pour l'hybridation sur colonie, les isolats ont été ensemencés sur gélose Luria-Bertani (Difco) et incubés à 35°C pendant 4 à 5 heures. Les colonies ont été ensuite transférées sur papier filtre Whatman 3MM (Whatman International Ltd. Springfield, UK). Les filtres ont été traités, hybridés et révélés par autoradiographie. Des sondes génétiques ont été utilisées pour détecter les facteurs de virulence suivants : Intimine (*eae*), P-fimbriae (*pap*), SFA (S-fimbriae adhesins), aérobactine, hémolysine (*hly*), CNF (cytotoxic necrotoxic factor), vérotoxines (VT1 et VT2), toxines thermostables (STa et STb) et toxines thermolabiles (LT).

Détection des gènes de virulence chez *Listeria monocytogenes*. Extraction de l'ADN. L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée à l'aide de la trousse DNeasy (Qiagen Inc, Ontario) suivant les indications du fabricant. Brièvement, à partir d'une culture pure fraîche sur gélose au sang, une suspension bactérienne a été préparée dans 1 mL d'eau stérile puis centrifugée à 900xg pendant 2min 30sec. Ensuite le culot a été resuspendu dans 180 μ L de tampon ATL. 20 μ L de protéinase K (200 μ g/ml) ont été ajoutés au mélange puis vortexé et incubé à 55°C pendant 3 heures. Après digestion, 200 μ L de tampon AL ont été ajoutés au lysat, puis vortexé et incubé à 70°C pendant 10 min. Ensuite, 200 μ L d'alcool éthylique (96%) ont été ajoutés au culot puis vortexé. Le tout a été déposé sur une colonne avec un tube de collecte de 2 mL. La colonne a été centrifugée à 6000xg pendant 1 min puis transférée dans un nouveau tube. Deux lavages ont été effectués en ajoutant tour à tour 500 μ L de tampon AW1 puis AW2. Finalement, l'ADN fut élué par l'ajout de 200 μ L de tampon AE directement sur la membrane DNeasy puis laissé à température pièce 1 minute et centrifugé à 6000xg pendant 1min. Les tampons AE, AW1, AW2, AL, ATL ont été utilisés suivant les directives du fabricant.

PCR. La présence des gènes de virulence pour *hlyA*, *inlB* et *pcIB* a été détectée par multiplex en adaptant les méthodes préalablement décrites par Jaradat et coll. (2002) (29), Blais et Philippe (1993) (30), Ericsson et coll. (2000) (31) et Vasquez-Boland et coll. (1992) (32). Les amorces utilisées sont décrites dans le tableau I. Le mélange pour le PCR contient 14,125 μ L d'eau déionisée stérile

(Invitrogen), 2,5 μL de tampon 10X (200 mM Tris-HCl, pH 8.4, 500mM KCl) (Invitrogen), 0,75 μL de MgCl_2 (200mM) (Invitrogen), 0,5 μL de dNTPs (200 μM) (RocheApplied Science), 0,125 μL de Taq polymérase (5U/ μL) (Invitrogen), 2,5 μL de chaque paire d'amorces (10 pmol/ μL) (Invitrogen) et de 2 μL d'ADN. Des tubes contrôle ont été inclus avec les échantillons. L'amplification a été effectuée dans un thermocycleur (Biométra, Uno II) dans les conditions suivantes : une dénaturation à 94°C pour 3 min, suivi de 35 cycles de 94°C pour 60 sec (dénaturation), 60°C pendant 120 sec (hybridation) et 72°C pendant 60 sec (élongation). Puis une dernière élongation à 72°C pendant 3 min. 10 μL de chaque amplicon ont été soumis à une migration électrophorétique à 100 Volts pendant 45 min sur un gel de 1,5% (p/v) d'agarose (Sigma) dans 89 mM de Tris, 89 mM d'acide borique, 2 mM d'EDTA (Fisher Scientific). Le gel a été coloré au bromure d'éthidium et les résultats ont été visualisés sous lumière UV. Des clichés photographiques ont été effectués avec un Polaroid (type 667).

Détermination de la résistance aux antibiotiques des isolats dotés de facteurs de virulence. La susceptibilité aux agents antimicrobiens des isolats de *E. coli*, de *S. Typhimurium* et de *L. monocytogenes* a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose selon les standards de NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) (33). Les isolats testés ont été cultivés sur gélose Trypticase soja enrichie de sang de mouton à 5% (Difco). Après 24 heures d'incubation à 35°C, des colonies pures de chaque isolat ont été standardisées par suspension dans de la saline physiologique et ajustées à une turbidité équivalente au standard McFarland 0,5. Ensuite, les inoculums standardisés ont été transférés uniformément sur gélose Mueller Hinton (Difco) supplémenté de 5% de sang de mouton pour les souches de *L. monocytogenes* sur laquelle les disques contenant les antibiotiques ont été dispensés tout de suite après inoculation. Les antibiotiques utilisés pour effectuer les antibiogrammes sont : Pour *E. coli* et *Salmonella Typhimurium* : gentamicine (10 μg), tétracycline (30 μg), chloramphénicol (30 μg), triméthoprime en association avec sulfaméthoxazole (25 μg), céphalothine (30 μg), ampicilline (10 μg), amoxicilline en association avec acide clavulanique (30 μg), enrofloxacin (5 μg), streptomycine (10 μg), ceftiofur (30 μg), ceftiofur (30 μg). Pour *L. monocytogenes* : rifampicine (10 μg), érythromycine (15 μg), amoxicilline en association avec acide clavulanique

(30µg), ampicilline (10µg), clindamycine (2µg), céphalothine (30µg), gentamicine (10µg), pénicilline G (10 unit/s), tétracycline (30µg), vancomycine (30µg), triméthoprim en association avec sulfaméthoxazole (25µg), chloramphénicol (30µg). Des souches de *E. coli* ATTC 25922 et de *S. aureus* ATTC 25923 ont été ajoutées comme témoins. Après une incubation de 18 heures à 35°C, les géloses ont été retirées de l'incubateur pour fin de lecture, une règle graduée a été utilisée pour mesurer les zones d'inhibition respectives pour chaque antibiotique.

Analyses statistiques. Les comptes bactériens en ufc/cm² ont été transformés en log₁₀ ufc/cm² pour les analyses statistiques. Les moyennes et les écarts-types des comptes totaux, des coliformes totaux et des *E. coli* génériques ont été calculés avec le logiciel (Excel, Microsoft office xp professionnel, version 2002, Microsoft Corporation) et la comparaison des moyennes a été réalisée avec un test de Student. Dans cette étude la détection minimale de la population bactérienne mésophile totale a été de 1 ufc/cm² (-0,6 log₁₀ ufc/cm²). La contamination par les bactéries entériques indicatrices, *E. coli* et coliformes, s'est avérée très faible et souvent indétectable. Pour les fins de l'analyse statistique, tous les comptes ayant une valeur de zéro ont été ramenés à -0,5 log₁₀ ufc/cm² (5, 34, 35).

Résultats

Les résultats des dénombrements microbiens en \log_{10} ufc/cm² montrent que la contamination moyenne initiale des carcasses avant pasteurisation s'élève à 2,18 pour les CTA, à 0,16 pour les CCT et à 0,06 pour les CEC. Après pasteurisation de la carcasse, la charge bactérienne moyenne en \log_{10} ufc/cm² pour les CTA, les CCT et les CEC est tombée à 1,17, à 0,03 et à 0,01 respectivement. Après réfrigération, les comptes obtenus montrent des charges de 0,89, de 0,02 et de 0,01 \log_{10} ufc /cm² respectivement pour les CTA, les CCT et les CEC (Tableau 2). L'analyse des résultats montre une réduction significative ($p < 0,05$) d'au moins 1 \log_{10} ufc/cm² entre les comptes totaux avant et après pasteurisation et des réductions significatives ($p < 0,05$) pour les coliformes totaux et les *E. coli* génériques après pasteurisation. L'incidence de *L. monocytogenes* sur les carcasses avant pasteurisation, après pasteurisation et après réfrigération a été évaluée à 0,8% (8 cas), 2,6% (26 cas) et 3,1% (31 cas) respectivement (Tableau 3). Ainsi, une augmentation significative des *L. monocytogenes* a été observée après le traitement.

Aucune souche de salmonelles n'a été détectée sur les carcasses avant et après pasteurisation. Par contre, une carcasse s'est avérée positive pour *Salmonella* spp. après réfrigération (Tableau 3). Aucune souche de *E. coli* O157:H7 n'a été isolée sur les carcasses échantillonnées (Tableau 3). Toutefois, l'incidence des coliformes a été estimée à 34,0, 15,0 et 7,3% pour chacun des 3 points évalués et celle des *E. coli* génériques à 14,2, 1,8 et 1,6 respectivement (Tableau 4).

La prévalence des *E. coli* dotés de un ou plusieurs gènes de virulence sur l'ensemble des échantillons de carcasses a été de 14,7%. Cela représente 11,9% des isolats obtenus avant pasteurisation, 22,2% des isolats obtenus après pasteurisation et 31,2% des isolats obtenus après réfrigération (Tableau 5).

Tous les isolats de *L. monocytogenes* se sont avérés positifs pour les trois principaux facteurs de virulence qui ont été testés (*hlyA*, *inlB* et *pclB*).

Les résultats des antibiogrammes (Tableaux 6 et 7) montrent que certains isolats sont sensibles à tous les antibiotiques, certains montrent une sensibilité intermédiaire et d'autres sont multirésistants. Chez les isolats de *E. coli* et de *Salmonella* Typhimurium la sensibilité vis-à-vis de gentamicine, amoxicilline/acide clavulanique, enrofloxacin, céfoxitine, ceftiofur était de 100%. Par contre, chez les isolats de *E. coli*, on a observé une résistance vis-à-vis de la streptomycine (37%), de

la tétracycline (30%), de la triméthoprim /sulfaméthoxazole (12%), de l'ampicilline (8%), du chloramphénicol (4%) et une sensibilité intermédiaire pour l'ampicilline (4%) et la céphalothine (4%). Pour *Salmonella* Typhimurium, on a noté une résistance vis-à-vis du chloramphénicol, de l'ampicilline, de la streptomycine et une sensibilité intermédiaire pour la tétracycline. Tous les isolats de *L. monocytogenes* ont montré une sensibilité pour la rifampicine, l'érythromycine, l'amoxicilline/acide clavulanique, l'ampicilline, la céphalothine, la gentamicine, la pénicilline G, la tétracycline, la vancomycine, le triméthoprim/sulfaméthoxazole, le chloramphénicol et une résistance totale à la clindamycine.

Discussion

Différentes études ont été conduites pour évaluer l'impact d'un traitement à la vapeur des carcasses bovines dans le contrôle de la microflore d'altération ainsi que des microorganismes pathogènes (24-27). Phebus et coll. en 1997, puis Nutsch et coll. en 1997 et en 1998 ont rapporté que la pasteurisation à la vapeur des carcasses était efficace dans le contrôle des dangers microbiologiques, autant en conditions expérimentales qu'en conditions d'abattage (24-26). Ces études ont démontré que la vapeur, en atteignant simultanément toute la surface de la carcasse incluant les pores et en générant moins de déchets, a été plus efficace pour l'assainissement des carcasses à l'abattoir comparativement à d'autres méthodes comme le lavage à l'eau ou à l'acide (25, 27). Toutefois, ces études qui se limitaient à quelques régions anatomiques de la carcasse ne permettaient pas de confirmer un effet homogène du traitement sur tous les sites anatomiques, puisque la contamination microbienne n'est pas uniforme à la surface des carcasses (8,9).

Après la publication de ces résultats, de nouveaux prototypes de pasteurisateurs ont été mis en marché pour les abattoirs lesquels ont été conçus pour alléger l'encombrement et réduire la production de déchets. Depuis l'arrivée des nouveaux modèles de pasteurisateurs à la vapeur sur le marché canadien, les abattoirs ont adopté cette nouvelle technologie sans toujours procéder à son évaluation en conditions réelles d'abattage. Donc il s'est avéré nécessaire d'acquérir des données microbiologiques quant à l'efficacité de ces nouveaux prototypes en condition de terrain. La présente étude visait à évaluer l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur dans la réduction des contaminants microbiens sur toutes les régions anatomiques choisies de façon aléatoire à la surface des carcasses, elle s'intéressait également à la caractérisation des microorganismes isolés pour différents facteurs de virulence ainsi que leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques à usage courant en médecine humaine et vétérinaire.

Les résultats des dénombrements microbiens obtenus dans cette étude montrent que les conditions hygiéniques d'abattage des bovins dans l'abattoir étudié sont bonnes, en comparaison avec le taux moyen de contamination des carcasses en Amérique du Nord (5, 7-9, 36). Le niveau de contamination initial a été en général très faible et peut être expliqué par l'application d'un plan HACCP par l'abattoir pour réduire les risques de transmission de pathogènes alimentaires via les carcasses.

Pour la réduction de la microflore initiale moyenne des carcasses, la pasteurisation à la vapeur s'est révélée efficace. En effet, le traitement à la vapeur des carcasses a permis d'obtenir une réduction moyenne d'au moins un log pour la flore mésophile aérobie totale immédiatement après pasteurisation. Ces résultats sont en accord avec ceux de Phebus et coll. (1997) en conditions expérimentales (24) et ceux rapportés par Nutsch et coll. (1998) pour la pasteurisation à la vapeur des carcasses bovines en situation d'abattage (26). Toutefois, ces études étaient limitées à certaines régions de la carcasse comme recommandé par le USDA-FSIS (20). Dans le but de réduire certains biais, la présente étude a suivi un plan d'échantillonnage aléatoire où sont représentées toutes les régions anatomiques à la surface des carcasses, en se basant sur un modèle déjà établi (5).

Le dénombrement bactérien des coliformes totaux a affiché des valeurs très faibles avant pasteurisation. La contamination moyenne par les coliformes totaux a été inférieure à 0,2 log sur l'ensemble des échantillons. Ces résultats sont représentatifs d'un haut niveau d'hygiène à l'abattoir (37). La fréquence des coliformes sur les carcasses avant traitement de 34,0% a été réduite à 15,0% après pasteurisation et à 7,3% après réfrigération. Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par Nutsch et coll. (1998). En effet, ces auteurs ont rapporté une réduction de près de 90% des coliformes après traitement (25). Une réduction importante des coliformes après 24 heures de réfrigération a aussi été rapportée dans d'autres études (38-39).

Il a aussi été remarqué un faible taux de contamination des carcasses avant traitement par les *E. coli* génériques (14,2%). Toutefois, la pasteurisation à la vapeur a permis de réduire l'incidence à moins de 2% sur les carcasses traitées.

Tous les échantillons analysés se sont avérés négatifs pour *E. coli* O157:H7. Toutefois, l'absence de pathogènes comme *E. coli* O157:H7 dans les échantillons ne signifie pas nécessairement qu'il est complètement absent des surfaces des carcasses testées étant donné que la contamination bactérienne n'est pas uniformément répartie sur tous les sites anatomiques (8, 9). Par contre, la réduction obtenue pour *E. coli* devrait aussi se traduire par une diminution de la population des *E. coli* O157:H7 si cette bactérie devait être présente.

Dans cette étude, une seule carcasse, après réfrigération, a donné un résultat positif pour *Salmonella* spp. L'étude de Nutsch et coll. (1998) en conditions

d'abattage s'est aussi avérée négative pour l'isolement de salmonelles. La présence de salmonelles sur une carcasse après réfrigération peut être expliquée soit par une répartition hétérogène de ces pathogènes à la surface de la carcasse (40-42) ou encore par une possible contamination croisée avec les autres carcasses pendant la réfrigération (14). Généralement, la pasteurisation est considérée comme efficace dans le contrôle des salmonelles. En effet, une réduction très significative de salmonelles inoculées à la surface de carcasses par un traitement de pasteurisation a été démontrée dans l'étude de Dorsa et coll. (27).

Une augmentation significative de l'incidence de *L. monocytogenes* sur les carcasses après pasteurisation et après réfrigération a été observée. La flore totale étant significativement réduite par la pasteurisation, la croissance des *Listeria* pourrait être favorisée lors de la culture puisque la flore de compétition a été en partie détruite. De plus, l'augmentation de l'incidence de *L. monocytogenes* après la réfrigération peut être expliquée par le caractère psychotrope de la bactérie (43).

Il est aussi important de souligner que les résultats des dénombrements bactériens totaux peuvent varier selon les procédures d'échantillonnage (44-49). La technique par excision a souvent été présentée comme plus efficace que les autres méthodes d'échantillonnage. Cependant, Dorsa et coll. (1996) (45) et Gill et Jones (2000) (47) ont démontré que la méthode de chiffonnage avec des gazes produit des résultats similaires à la méthode par excision, notamment pour le décompte de bactéries aérobies sur une surface de 100 cm². Un recouvrement équivalent pour les différentes méthodes de dénombrement pour les comptes totaux, les coliformes totaux ainsi que les *E. coli* avant réfrigération a aussi été rapporté par Ware et coll. (1999) (48). Toutefois, cette même étude montre une différence significative dans le recouvrement après refroidissement qui pourrait être due à l'attachement des cellules à la surface des carcasses pendant la réfrigération. Cependant, une étude récente démontre que la pasteurisation à la vapeur n'a pas d'effets favorables ou d'inhibition sur l'adhésion des bactéries à la surface des carcasses (50).

Les bovins sont considérés comme le réservoir principal des *E. coli* pathogènes, en particulier des vérotoxinogènes. Nous avons donc évalué la prévalence de certains gènes intervenant dans la virulence de ces dernières. Les résultats montrent une grande variation dans le profil génétique en fonction du temps d'isolement. Les gènes *eae* et *hly* sont rencontrés uniquement chez les isolats obtenus

avant pasteurisation. Les gènes qui codent pour l'entérohémolysine et les toxines VT1 et VT2 sont plus prévalents chez les isolats obtenus après pasteurisation et après refroidissement. De même que le gène qui code pour l'aérobactine est prédominant chez les isolats obtenus avant pasteurisation. Cette variation dans le profil génétique des *E. coli* suggère que la population est très diversifiée en terme de sérovars, et suggère que les bactéries qui possèdent des gènes de virulence sont les plus résistantes aux conditions adverses de l'environnement (51-52), en particulier à certaines températures de la pasteurisation.

Tous les isolats de *L. monocytogenes* se sont avérés positifs pour les trois principaux facteurs de virulence recherchés. La présence des gènes de virulence (*hlyA*, *inlB* et *pclB*) révélée par technique de PCR chez les isolats de *L. monocytogenes* suggère que toutes ces souches sont potentiellement pathogènes pour l'humain. En effet, Amoril et Bhunia (1999) (53) ont pu démontrer que les isolats de *L. monocytogenes* provenant des aliments étaient cytopathogènes donc capables d'infecter *in vitro* les tissus animaux. Dans cette étude on n'a pas pu démontrer de polymorphisme dans les gènes de virulence de *L. monocytogenes*. En général, les produits de PCR des gènes de virulence ne montrent pas de polymorphisme chez *L. monocytogenes* (30) sauf pour le gène *actA* lequel n'a pas été testé au cours de cette étude.

La résistance aux agents antimicrobiens des bactéries pathogènes telles *E. coli* isolées sur des aliments et dans les cas cliniques a été documentée dans de nombreuses études (54-56). Les résultats ont démontré en général une augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les *E. coli* (56). Les résultats de notre étude ont montré une résistance vis-à-vis de la streptomycine (37%), de la tétracycline (30%), de la triméthoprim/sulfaméthoxazole (12%), de l'ampicilline (8%) du chloramphénicol (4%) et une sensibilité intermédiaire pour l'ampicilline (4%) et la céphalothine (4%). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par d'autres études qui ont relatées une résistance aux tétracyclines, à la streptomycine, aux sulfamides et à l'ampicilline (54-56). Toutefois, nos résultats montrent que certains antibiotiques tels la gentamicine, l'amoxicilline/acide clavulanique, l'enrofloxacin, la céfoxitine et le ceftiofur gardent une excellente activité contre les *E. coli*. *E. coli* est capable de transférer les résistances acquises aux autres bactéries pathogènes à travers des échanges de plasmides, de transposons ou d'intégrons et vice versa (54, 57). Les *E.*

coli pathogènes résistants aux antibiotiques présents dans les aliments constituent une sérieuse menace pour la santé des humains, de par les infections qu'elles engendrent et surtout par leur capacité à transférer cette résistance aux autres pathogènes alimentaires. Ces résultats supportent donc que la viande de bovins puisse être une source potentielle de transmission des *E. coli* pathogènes résistantes aux antibiotiques.

S. Typhimurium est un pathogène alimentaire qui, par les infections qu'il cause et sa résistance aux antibiotiques, représente une sérieuse menace pour la santé publique (16, 58). Une augmentation de la résistance multiple aux antibiotiques a été rapportée chez certains isolats de *S. Typhimurium*, en particulier le type phagique DT104, dans plusieurs pays y compris le Canada (59-61). Cette multirésistance a été notée, entre autres, pour l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfamides et les tétracyclines. Les résultats de cette étude montrent que notre isolat de *S. Typhimurium* est doté d'un phénotype résistant pour l'ampicilline, le chloramphénicol et la streptomycine et présente une sensibilité intermédiaire à la tétracycline. Ces résultats permettent de confirmer la présence de souches de *S. Typhimurium* multirésistantes aux antibiotiques susceptibles d'être transmises par le biais des aliments contaminés à l'homme (16, 55, 61).

L. monocytogenes est un pathogène alimentaire qui représente une menace pour la santé publique par le fait que cette bactérie continue à croître à la température d'entreposage des aliments. Cette menace pourrait être encore plus importante si ces isolats développaient des phénotypes résistants aux agents thérapeutiques. Généralement, les isolats de *L. monocytogenes* sont réputés sensibles à un spectre assez large d'antibiotiques (62, 63). Par contre, de plus en plus de résultats de recherche commencent à relater l'apparition de souches de *L. monocytogenes* résistantes suite à l'acquisition de matériel génétique (plasmides, transposons, intégrons) provenant d'autres bactéries résistantes en particulier du genre *Staphylococcus* (62, 64). Les résultats de cette étude ont montré une sensibilité complète pour tous les antibiotiques testés sauf pour la clindamycine. Les récentes études rapportent en général un taux de résistance à la clindamycine très élevé chez *L. monocytogenes* (62, 63, 64), ce qu'on a pu constater au cours de nos antibiotypies. Néanmoins, ces résultats confirment que les *L. monocytogenes* isolés sur les aliments gardent leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques usuels.

Le pH ultime du muscle est le facteur le plus important qui influence les qualités organoleptiques de la viande (65-66). En général, dans la littérature on rapporte que le pH ultime du *Longissimus* se situe généralement autour de 5,50. La valeur moyenne des pH à 24 heures montre une diminution significative du pH après réfrigération. Ceci suggère que le traitement à la vapeur n'aurait aucune influence sur le processus d'acidification du muscle.

Conclusion

En résumé, les résultats de cette étude révèlent que la pasteurisation à la vapeur contribue à diminuer significativement les comptes bactériens totaux ainsi que les comptes de coliformes et *E. coli* sur les carcasses de bovins. Cette technique peut donc être considérée comme un moyen efficace dans la réduction de la contamination microbienne initiale consécutive aux opérations d'abattage. Les taux de contamination par des bactéries pathogènes telles *E. coli* O157:H7 ou *Salmonella* spp. obtenus dans cette étude sont trop faibles pour tirer des conclusions quant à l'efficacité de la pasteurisation contre ces bactéries. Toutefois, dans la mesure où les bactéries indicatrices utilisées permettent d'évaluer les risques de contamination par ces pathogènes, la pasteurisation peut être considérée efficace pour réduire les risques de contamination par des bactéries pathogènes dans le cadre de l'application d'un modèle HACCP à l'abattoir.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Laurette Bard pour son assistance technique.

Bibliographie

1. Charlebois R., Trudel R., Messier S. 1991. Surface contamination of beef carcass by faecal coliforms. *J. Food Prot.* 54: 960-956.
2. Elder R.O., Keen J.E., Siragusa G.R., Barkocy-Gallagher G.A., Koohmaraie M., Laegreid W.W. 2000. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(7): 2999-3003.
3. Galland, J.C. 1997. Risks and prevention of contamination of beef carcasses during the slaughter process in the United States of America. *Rev. Sci. Tech.* 16: 395-404.
4. Gill C.O., McGinnis J.C., Bryant J. 1998. Microbiological contamination of meat during the skinning of beef carcass hindquarters at three slaughtering plants. *Int. J. Food Microbiol.* 42: 175-184.
5. Gill C.O., Jones T. 1999. The microbiological effects of breaking operation on hanging beef carcass sides. *Food Res. Int.* 32: 453-459.
6. Guyon R., Dorey F., Malas J.P., Leclercq A. 2001. Hazard analysis of *Escherichia coli* O157:H7 contamination during beef slaughtering in Calvados, France. *J. Food Prot.* 64(9): 1341-1345.
7. Sheridan J.J. 1998. Sources of contamination during slaughter and measures for control. *J. Food Safety* 18: 321-339.
8. Sofos J.N., Kochevar S.L., Bellinger G.R., Buege D.R., Hancock D.D., Ingham S.C., Morgan J.B., Reagan J.O., Smith G.C. 1999. Sources and extent of microbiological contamination of beef carcasses in seven United States slaughtering plants. *J. Food Prot.* 62(2): 140-145.
9. Bacon R.T., Belk K.E., Sofos J.N., Clayton R.P., Reagan J.O., Smith G.C. 2000. Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *J. Food Prot.* 63(8): 1080-1086.
10. Bolton D.J., Doherty A.M., Sheridan J.J. 2001. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *Int. J. Food Microbiol.* 66(1-2): 119-129.
11. Cutter C.N., Rivera-Betancourt M. 2000. Interventions for the reduction of *Salmonella* Typhimurium DT 104 and non-O157:H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* on beef surfaces. *J Food Prot.* 63(10): 1326-1332.

12. Delmore R.J., Sofos J.N., Schmidt G.R., Belk K.E., Lloyd W.R., Smith G.C. 2000. Interventions to reduce microbiological contamination of beef variety meats. *J. Food Prot.* 63(1): 44-50.
13. Untermann F., Stephan R., Dura U., Hofer M., Heimann P. 1997. Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control program of abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 34(1): 67-77.
14. Gustavsson P., Borch E. 1993. Contamination of beef carcasses by psychrotrophic *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* at different stages along the processing line. *Int. J. Food Microbiol.* 20(2): 67-83.
15. Doyle M.P. 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 12(4): 289-301.
16. Bacon R.T., Sofos J.N., Belk K.E., Hyatt D.R., Smith G.C. 2002. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* isolated from beef animal hides and carcasses. *J. Food Prot.* 65(2): 284-290.
17. Donnelly C.W. 2001. *Listeria monocytogenes*: a continuing challenge. *Nutr. Rev.* 59(6): 183-94.
18. Samelis J., Sofos J.N., Kendall P.A., Smith G.C. 2001. Fate of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT 104 and *Listeria monocytogenes* in fresh meat decontamination fluids at 4 and 10°C. *J. Food Prot.* 64(7): 950-957.
19. Tollefson L., Miller M.A. 2000. Antibiotic use in food animals: controlling the human health impact. *J. AOAC Int.* 83(2): 245-254.
20. Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture. Pathogen reduction; Hazard Analysis and Critical Control point systems. 1996. *Federal Register*. 61(144): 38805-38889.
21. Smulders F.J., Greer G.G. 1998. Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programs for muscle foods: prospects and controversies. *Int. J. Food Microbiol.* 44(3): 149-169.
22. Dormedy E.S., Brashears M.M., Cutter C.N., Burson D.E. 2000. Validation of acid washes as critical control points in hazard analysis and critical control point systems. *J. Food Prot.* 63(12): 1676-1680.
23. Castillo A., Lucia L.M., Goodson K.J., Savell J.W., Acuff G.R. 1998. Use of hot water for beef carcass decontamination. *J. Food Prot.* 61(1): 19-25.

24. Phebus R.K., Nutsch A.L., Schafer D.E., Wilson R.C., Riemann M.J., Leising J.D., Kastner C.L., Wolf J.R., Prasai R.K. 1997. Comparison of steam pasteurisation and other methods for reduction of pathogens on surfaces of freshly slaughtered beef. *J. Food Prot.* 60(5): 476-484.
25. Nutsch A.L., Phebus R.K., Riemann M.J., Schafer D.E., Boyer J.E., Wilson R.C., Leising J.D., Kastner C.L. 1997. Evaluation of a steam pasteurisation process in a commercial beef processing facility. *J. Food Prot.* 60(5): 485-492.
26. Nutsch A.L., Phebus R.K., Riemann M.J., Kotrola J.S., Wilson R.C., Boyer J.E., Brown T.L. 1998. Steam pasteurization of commercially slaughtered beef carcasses: evaluation of bacterial populations at five anatomical locations. *J. Food Prot.* 61(5): 571-577.
27. Dorsa W.J., Cutter C.N., Siragusa G.R., Koohmaraie M. 1996. Microbiol decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. *J. Food Prot.* 59(2): 127-135.
28. Caya F., Fairbrother J.M., Lessard L., Quessy S. 1999. Characterization of the risk to human health of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chicken carcasses. *J. Food Prot.* 62(7): 741-746.
29. Jaradat Z.W., Schutze G.E., Bhunia A.K. 2002. Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meat products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.* 76: 1-10.
30. Blais B., Philippe L. 1993. A simple RNA probe system for analysis of *Listeria monocytogenes* polymerase chain reaction product. *Appl. Env. Microbiol.* 59(9): 2795-2800.
31. Ericson H., Unnerstad H., Mattsaon J.G., Danielsson-Tham M.L., Tham W. 2000. Molecular grouping of *Listeria monocytogenes* based on the sequence of the *inlb* gene. *J. Med. Microbiol.* 49: 73-80.
32. Vasquez-Boland, J.A., Kocks C., Dramsi S., Ohayon H., Geoffroy C., Mengaud J., Cossart P. 1992. Nucleotid sequence of the lecithinase operon of *Listeria monocytogenes* and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. *Infect. Immun.* 60: 219-230.

33. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Inc. 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A6. vol. 17(31). National Committee for clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
34. Brown M.H., Baird-Parker A.C. 1982. The microbiological examination of meat, p. 423-520, *In* Brown M.H (ed). Meat Microbiology. London, Applied Science Publisher.
35. Kilsby D.C., Pugh M.E. 1981. The relevance of the distribution of microorganisms within batches of food to the control of microbiological hazards from foods. *J. Applied Bacteriol.* 51: 345-354.
36. Byrne C.M., Bolton D.J., Sheridan J.J., Blair I.S., McDowell D.A. 2002. The effect of commercial production and product formulation stresses on the heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900) in beef burgers. *Int. J. Food Microbiol.* 79(3): 183-192.
37. Gill C.O., McGinnis J.C., Badoni M. 1996. Assessment of the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *J. Food Prot.* 59(2): 136-140.
38. Siragusa G.R., Dorsa W.J., Cutter C.N., Bennett G.L., Keen J.E., Koohmaraie M. 1998. The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count categories during the slaughter process. *J. Food Prot.* 61(10): 1269-1274.
39. Calicioglu M., Buege D.R., Ingham S.C., Luchansky J.B. 1999. Recovery of *Escherichia coli* Biotype I and *Enterococcus* spp. during refrigerated storage of beef carcasses inoculated with a fecal slurry. *J. Food Prot.* 62(8): 944-947.
40. Gill C.O., Bryant J. 1997. Assessment of hygienic performances of two beef carcass cooling processes from product temperature history data or enumeration of bacteria on carcass surfaces. *Food Microbiol.* 14: 593-602.
41. Dennaï N., Kharrati B., EL Yachoui M. 2001. Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. *Ann. Méd. Vet.* 145: 270-274.
42. Sofos J.N., Kochevar S.L., Reagan J.O., Smith G.C. 1999. Incidence of *Salmonella* on beef carcasses relating to the U.S. meat and poultry inspection regulations. *J. Food Prot.* 62(5): 467-473.

43. Liu S., Graham J.E., Bigelow L., Morse P.D., Wilkinson B.J. 2002. Identification of *Listeria monocytogenes* genes expressed in response to growth at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(4): 1697-1705.
44. Ware L.M., Kain M.L., Sofos, J.N., Belk K.E., Reagan J.O., Smith J.C. 2001. Influence of procedure, handling and storage on the microbiological status of fresh beef. *Dairy Food Environ. San.* 21(1): 14-19.
45. Dorsa W.J., Cutter C.N., Siragusa G.R. 1996. Evaluation of six sampling methods for recovery of bacteria from beef carcass surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.* 22(1): 39-41.
46. Gill C.O., Badoni M., McGinnis J.C. 2001. Microbiological sampling of meat cuts and manufacturing beef by excision or swabbing. *J. Food Prot.* 64(3): 325-334.
47. Gill C.O., Jones T. 2000. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *J. Food Prot.* 63(2): 167-173.
48. Ware L.M., Kain M.L., Sofos J.N., Belk K.E., Smith G.C. 1999. Comparison of sponging and excising as sampling procedures for microbiological analysis of fresh beef-carcass tissue. *J. Food Prot.* 62(11): 1255-1259.
49. Ransom J.R., Belk K.E., Bacon R.T., Sofos J.N., Scanga J.A., Smith G.C. 2002. Comparison of sampling methods for microbiological testing of beef animal rectal/colonal feces, hides, and carcasses. *J. Food Prot.* 65(4): 621-626.
50. Warriner K., Eveleigh K., Goodman J., Betts G., Gonzales M., Waites W.M. 2001. Attachment of bacteria to beef from steam-pasteurized carcasses. *J. Food Prot.* 64(4): 493-497.
51. Rowe M.T., Kirk R.B. 2000. Effect of nutrient starvation on the resistance of *Escherichia coli* O157:H7 to subsequent heat stress. *J. Food Prot.* 63(12): 1745-1748.
52. Harel J., Martin C. 1999. Virulence gene regulation in pathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Res.* 30(2-3): 131-155.
53. Amoril J.G., Bhunia A.K. 1999. Immunological and cytopathogenic properties of *Listeria monocytogenes* isolated from naturally contaminated meats. *J. Food Safety.* 19: 195-207.
54. Schroeder C.M., White D.G., Ge B., Zhang Y., McDermott P.F., Ayers S., Zhao S., Meng J. 2003. Isolation of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from retail

- meats purchased in Greater Washington, DC, USA. *Int. J. food Microbiol.* 85: 197-202.
55. White D.G., Zhao S., Sudler R., Ayers S., Friedman S., Chen S., McDermott P.F., McDermott S., Wagner D.D., Meng J. 2001. The isolation of antibiotic-resistant salmonella from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.* 345(16): 1147-1154.
 56. Bettelheim K.A., Hornitzky M.A., Djordjevic S.P., Kuzevski A. 2003. Antibiotic resistance among verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and non-VTEC isolated from domestic animals and humans. *J. Med. Microbiol.* 52(2): 155-162.
 57. White D.G., Zhao S., Simjee S., Wagner D.D., McDermott P.F. 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes Infect.* 4(4): 405-412.
 58. Logue C.M., Sherwood J.S., Olah P.A., Elijah L.M., Dockter M.R. 2003. The incidence of antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. on freshly processed poultry from US Midwestern processing plants. *J. Appl. Microbiol.* 94(1): 16-24.
 59. Threlfall E.J., Fisher I.S., Berghold C., Gerner-Smidt P., Tschape H., Cormican M., Luzzi I., Schnieder F., Wannet W., Machado J., Edwards G. 2003. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multi-centre surveillance. *Euro. Surveill.* 8(2): 41-45.
 60. Poppe C., Ziebell K., Martin L., Allen K. 2002. Diversity in antimicrobial resistance and other characteristics among *Salmonella* Typhimurium DT104 isolates. *Microb. Drug. Resist.* 8(2): 107-122.
 61. Yang S.J., Park K.Y., Seo K.S., Besser T.E., Yoo H.S., Noh K.M., Kim S.H., Kim S.H., Lee B.K., Kook Y.H., Park Y.H. 2001. Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis identified by multiplex PCR from animals. *J. Vet. Sci.* 2(3): 181-188.
 62. Prazak A.M., Murano E.A., Mercado I., Acuff G.R. 2002. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from various cabbage farms and packing sheds in Texas. *J. Food Prot.* 65(11): 1796-1799.
 63. Vela A.I., Fernandez-Garayzabal J.F., Latre M.V., Rodriguez A.A., Dominguez L., Moreno M.A. 2001. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 17(3): 215-220.

64. Antunes P., Reu C., Sousa J.C., Pestana N., Peixe L. 2002. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in Porto, Portugal. J. Food Prot. 65(12): 1888-1893.
65. Page J.K., Wulf D.M., Schwotzer T.R. 2001. A survey of beef muscle color and pH. J. Anim. Sci. 79(3): 678-687.
66. Wulf D.M., Page J.K. 2000. Using measurements of muscle color, pH, and electrical impedance to augment the current USDA beef quality grading standards and improve the accuracy and precision of sorting carcasses into palatability groups. J. Anim. Sci. 78(10): 2595-2607.

Tableau I. Amorces utilisées pour l'amplification des gènes de virulence des isolats de *L. monocytogenes*

Amorces	Séquence (5'-3')	Tailles du gène (pb)	Localisation sur le gène	Poids du produit (pb)	Références
<i>inlB</i>	F AAA GCA CGA TTT CAT GGG AG	1893	922-1067	146	Jaradat et coll., 2002, Ericsson et coll., 2000
	R ACA TAG CCT TGT TTG GTC GG				
<i>plcB</i>	F GGG AAA TTT GAC ACA GCG TT	870	463-723	261	Jaradat et coll., 2002, Vasquez-Boland et coll., 1992
	R ATT TTC GGG TAG TCC GCT TT				
<i>hlyA</i>	F CAT TAG TGG AAA GAT GGA AT	1590	680-1411	730	Blais et Philippe, 1993
	R GTA TCC TCC AGA GTG ATC GAG				

Tableau II. Moyennes et écart-types des \log_{10} ufc/cm² des comptes totaux, des coliformes totaux et des *E. coli* totaux, ainsi que la valeur estimée de logA avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).

	Comptes totaux			Coliformes totaux			<i>E. coli</i>		
	u	s	logA	u	s	logA	u	s	logA
AvP	2,18 ^a	0,72	3,15	0,16 ^a	0,32	-0,45	0,06 ^a	0,19	-1,6
ApP	1,17 ^b	0,63	1,8	0,03 ^b	0,13	-2,33	0,01 ^b	0,05	-4,31
ApR	0,89 ^b	0,66	1,7	0,02 ^b	0,16	-1,98	0,01 ^b	0,09	-3,11

Les différences entre les moyennes d'une même colonne ayant des lettres différentes sont statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Tableau III. Prévalence des bactéries pathogènes sur les carcasses avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).

	<i>Salmonella</i> spp. N= 1003	<i>L. monocytogenes</i> N = 1003	<i>E. coli</i> O157:H7 N = 603
AvP	0 (0,0%)	8 (0,8%)	0 (0,00%)
ApP	0 (0,0%)	26 (2,6%)	0 (0,0%)
ApR	1 (0,1%)	31 (3,1%)	0 (0,0%)

Tableau IV. Prévalence des carcasses contaminées par des coliformes et des *E. coli* avant pasteurisation (AvP), après pasteurisation (ApP) et après réfrigération (ApR).

	Coliformes totaux N = 1003	<i>E. coli</i> N=1003
AvP	341 (34,0%)	143 (14,2%)
ApP	151 (15,0%)	18 (1,8%)
ApR	73 (7,3%)	16 (1,6%)

Tableau V. Pathotype des *E. coli* isolés sur les carcasses des bovins.

	Avant pasteurisation	Après pasteurisation	Après réfrigération	Total
Pathotypes	N=143	N=18	N=16	177
Eae	4 (2,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (2,3%)
Pap	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
VT2	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
AFA	0 (0,0%)	1 (5,5%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
Hly- α	3 (2,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (1,7%)
Hly-EHEC	0 (0,0%)	1 (5,5%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
CNF	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
Aérobactine	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (12,5%)	2 (1,1%)
CNF+Aéro	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
AFA+Aéro	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
VT2+Hly-EHEC	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (18,7%)	3 (1,7%)
VT1+VT2+EHEC	0 (0,0%)	2 (11,1%)	0 (0,0%)	2 (1,1%)
Pap+Aéro	2 (1,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (1,1%)
Pap+AFA+Aéro	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
CNF+AFA+Aéro	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
CNF+Pap+Hly- α +Aéro	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,6%)
Total	17 (11,9%)	4 (22,2%)	5 (31,2%)	26 (14,7%)

Tableau VI. Résultats des antibiogrammes sur les isolats de *E. coli* retrouvés sur les carcasses de bovins.

E. coli (N=27)			
Antibiotiques	S	I	R
	N (%)	N (%)	N (%)
Gentamicine	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Tétracycline	19 (70)	0 (0)	8 (30)
Chloramphénicol	26 (96)	0 (0)	1 (4)
Triméth./sulfa.*	24 (89)	0 (0)	3 (12)
Céphalothine	26 (96)	1 (4)	0 (0)
Ampicilline	24 (89)	1 (4)	2 (8)
Amox./Ac.Cl**	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Enrofloxacin	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Streptomycine	17 (63)	0 (0)	10 (37)
Céfoxitine	27 (100)	0 (0)	0 (0)
Ceftiofur	27 (100)	0 (0)	0 (0)

S= Sensibilité, I= Sensibilité intermédiaire, R= Résistance

* Triméthoprim en association avec sulfaméthoxazole

** Amoxicilline en association avec acide clavulanique

Tableau VII. Résultats des antibiogrammes sur les isolats de *L. monocytogenes*.

<i>L. monocytogenes</i> (N=75)			
	Sensibilité	Intermédiaire	Résistance
Antibiotiques	N (%)	N (%)	N (%)
Clindamycine	0 (0)	0 (0)	75 (100)
Gentamicine	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Tétracycline	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Chloramphénicol	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Triméth./sulfa.*	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Céphalothinge	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Ampicilline	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Amox./Ac.Cl**	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Rifampicine	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Pénicilline G	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Érythromycine	75 (100)	0 (0)	0 (0)
Vancomycine	75 (100)	0 (0)	0 (0)

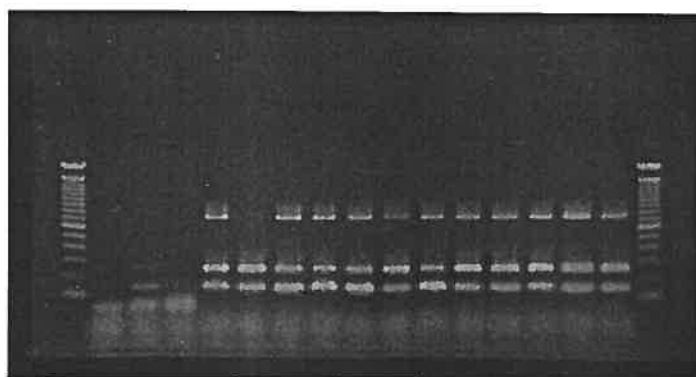
*Triméthoprine en association avec sulfaméthoxazole

** Amoxicilline en association avec acide clavulanique

Tableau VIII. Moyennes des températures et des pH intramusculaires des carcasses.

	pH (N=50)	Température (N=50)
Avant pasteurisation	6,8	35,5
Après pasteurisation	6,7	36,6
Après réfrigération	6,2	3,5

Figure 1. Amplification par PCR des gènes de virulence de *L. monocytogenes* isolée sur les carcasses de bovins. Les gènes des facteurs de virulence amplifiés sont l'hémolysine (Listériolysine O) (*hlyA*) (730 pb), la phosphatidylcholine-spécifique phospholipase C (*plcB*) (261) et l'internaline (*inlB*) (146 pb). De gauche à droite sont représentés : 1) Marqueur 100 pb, 2) Blanc, 3) *Listeria innocua* ATCC 33090, 4) *Listeria ivanovii*, 5) *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, 6) *Listeria monocytogenes* Ci-I, 7) 01-CB-4 B, 8) 01-CB-24 B, 9) 01-CB-38 B, 10) 01-CB-45 C, 11) 01-CB-69 B, 12) 01-CB-82 A, 13) 01-CB-107 A, 14) 01-CB-108 A, 15) 01-CB-109 A, 16) 01-CB-110 A, 17) Marqueur 100 pb



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

IV- DISCUSSION ET CONCLUSION

Les processus d'abattage et de transformation de la viande bovine peuvent conduire, en dépit de toutes les précautions hygiéniques prises, à la contamination du muscle par des microorganismes hébergés par l'animal (peau, tube digestif) ou de l'environnement (couteaux, manipulation, eau, air) (Reid et coll., 2002; McEvoy et coll., 2000; Elder et coll., 2000; Bell, 1997; Galland, 1997). Certains de ces microorganismes tels *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* et *E. coli* O157:H7 sont des pathogènes alimentaires susceptibles de causer des toxi-infections alimentaires chez les consommateurs et peuvent être responsables de pertes économiques considérables et de productivité. Dans le but de réduire les risques associés à la présence de pathogènes alimentaires sur les carcasses, les organismes gouvernementaux tels l'ACIA (Agence Canadienne d'Inspection des Aliments) et le FSIS-USDA (Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture) ont imposé à l'industrie de la viande bovine des mesures de gestion des dangers biologiques telles le système HACCP pour le contrôle des points critiques reliés au processus d'abattage (USDA-FSIS, 1996). C'est ainsi que le FSIS-USDA réclame au moins trois méthodes de traitement (incluant le parage, la vapeur sous-vide et un traitement thermique), pour réduire les risques biologiques liés à la contamination initiale des carcasses, au niveau des abattoirs qui exportent vers les USA. Parmi les dispositions adoptées pour améliorer la sécurité microbiologique des carcasses à l'abattoir, le traitement thermique des carcasses, notamment la pasteurisation à la vapeur, représente l'une des technologies les plus prometteuses (Nutsch et coll., 1997 et 1998; Phebus et coll., 1997; Gill et Jones, 1997; Gill et coll., 1997; Dorsa et coll., 1996a).

En effet, plusieurs études ont déjà été conduites pour évaluer l'efficacité du traitement à la vapeur des carcasses dans le contrôle des dangers microbiologiques suite aux processus de déshabillage et d'éviscération (Nutsch et coll., 1997 et 1998; Phebus et coll., 1997; Dorsa et coll., 1996a). Toutefois, ces études ont été conduites en utilisant les premiers modèles de pasteurisateur (Phebus et coll., 1997; Gill et coll., 1997) qui ont été ensuite remplacés par de nouveaux prototypes, plus adaptés au besoin des abattoirs. Pour pouvoir évaluer le rendement de ces nouveaux prototypes de pasteurisateur, l'acquisition de données microbiologiques en condition de terrain s'avère donc nécessaire. En plus, lors de notre étude, pour éviter certains biais, il nous est apparu important de tester aléatoirement tous les sites anatomiques

contrairement aux études antérieures qui l'ont fait suivant la méthode officielle recommandée par la FSIS. Celle-ci suggère d'échantillonner les trois (3) sites les plus contaminés de la carcasse. De même, nous avons procédé à une caractérisation du risque associé à la présence de certains microorganismes à la surface de la carcasse, en vérifiant la présence de différents facteurs impliqués dans leur virulence. Nous avons aussi déterminé la susceptibilité et la résistance de nos isolats aux différents antibiotiques à usage courant en médecine vétérinaire et humaine.

1 Évaluation de la contamination initiale des carcasses

1.1 Les organismes indicateurs

Les organismes indicateurs tels la flore mésophile aérobie totale, les coliformes totaux et les *E. coli* génériques constituent des moyens rapides d'évaluer la qualité bactériologique de la viande et, par conséquent, de faire des prédictions sur son état hygiénique. En effet, la détection de pathogènes dans les aliments, par les méthodes de culture conventionnelle, est longue et parfois limitée par un seuil de détection parfois plus faible que la dose infectante. Donc, l'utilisation de microorganismes indicateurs devient un moyen très efficace permettant d'apprécier la qualité hygiénique des carcasses à l'abattoir. Ils sont également utilisés comme critère de refus ou d'acceptation de la viande à l'exportation.

1.1.1 La flore mésophile aérobie totale

L'importance du dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, comme indicateur de contamination globale ainsi que de la qualité hygiénique des carcasses, a été démontrée dans plusieurs études (Siragusa et coll., 1998; Lasta et al., 1992; Stolle, 1988; Robert et coll., 1980). La plupart des auteurs utilisent la flore mésophile totale pour prédire la durée de vie de la carcasse et également pour évaluer la qualité microbiologique globale des produits bruts ou des produits finis (Siragusa et coll., 1998; Robert et coll., 1980). Néanmoins, l'évaluation de la flore mésophile totale ne permet pas de détecter les présences de pathogènes spécifiques pouvant contaminer les carcasses pendant le processus d'abattage (Gill et coll., 1996b).

Au cours de cette étude, le dénombrement de la flore mésophile totale a affiché des valeurs très faibles en comparaison avec la valeur moyenne de la contamination initiale des carcasses en Amérique du Nord (Bacon et coll., 2000; Gill

et Jones, 1999; Sheridan, 1998; Gill et coll., 1996a, 1999c). Toutefois, ce niveau de contamination initiale très faible peut être expliqué par l'application d'un plan HACCP par l'abattoir pour réduire les risques de transmission de pathogènes alimentaires via les carcasses (Lasta et coll., 1992). Cependant, il faut signaler également qu'un faible taux de contamination par la flore mésophile ne peut être considéré comme un critère absolu de sécurité microbiologique de la carcasse, car les pathogènes ou leurs toxines peuvent y être présents parfois en quantité non détectable (Siragusa et coll., 1998). D'autre part, la flore mésophile non pathogène peut avoir des effets d'inhibition sur la croissance d'éventuels pathogènes à la surface des carcasses. En effet, certaines études ont démontré que la microflore saprophyte compétitive contribuait au contrôle de la croissance des pathogènes inoculés à la surface des carcasses (Berry et Koomaraie, 2001; Duffy et coll., 1999; Jay, 1995), par la mobilisation des nutriments. Toutefois, aucune corrélation positive n'a, jusqu'à présent, été démontrée entre la flore totale et la présence de pathogènes dans les aliments (Gill et coll., 1996b). Par conséquent, le décompte de la flore mésophile totale ne constitue qu'un examen de prédiction et d'appréciation de la valeur microbiologique de la viande mais reste, toutefois, un outil de décision appréciable.

1.1.2 Les coliformes totaux

Les auteurs utilisent les comptes en coliformes totaux pour évaluer l'état de fraîcheur de la carcasse et aussi pour évaluer les conditions hygiéniques de l'abattage (Charlebois et coll., 1991; Cartie, 1990). La présence de coliformes dans les carcasses peut être le résultat d'une contamination fécale et, par conséquent, permet de suspecter la présence d'éventuels pathogènes entériques (Gill et coll., 1996b; Charlebois et coll., 1991). Toutefois, certains chercheurs ont avancés que leur présence est plutôt due à un manque d'hygiène et que leur absence ne garantit pas la sécurité microbiologique de la carcasse (Gill et coll., 1996b).

Les résultats de cette étude ont montré un niveau de contamination très faible par les coliformes totaux, avant traitement à la vapeur. La contamination moyenne par les coliformes totaux a été inférieure à 0,2 log sur l'ensemble des échantillons. Ces résultats sont peut être également dus à l'application du plan HACCP à l'abattoir pour diminuer les risques microbiologiques (Jericho et coll., 2000a; Siragusa et coll.,

1998). Par contre, la prévalence de bactéries coliformes a été évaluée à 33%, ce qui pourrait indiquer qu'au plus une carcasse sur trois était l'objet de contamination fécale ou environnementale (Gill et McGinnis, 2000) pendant le processus de déshabillage et d'éviscération. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus dans d'autres études similaires (Nutsch et coll., 1998; Dorsa et coll., 1996) qui soutiennent que l'application d'un plan HACCP contribue à réduire la contamination initiale des carcasses par les coliformes et autres contaminants biologiques dans un établissement de bovins (Gill et coll., 1996c).

1.1.3 Les *E. coli* génériques

L'utilité des *E. coli* totaux comme indicateur de contamination fécale ainsi que de la qualité hygiénique des carcasses a été démontré dans plusieurs études (Russel et coll., 2000, Gill et coll., 1996b). Puisque, la contamination fécale représente la voie de transmission de certains pathogènes comme *Salmonella*, *Campylobacter* et *E. coli* O157 (Russel et coll., 2000), le dénombrement des *E. coli* totaux a été recommandé par certains auteurs pour évaluer la qualité et la sécurité microbiologique des carcasses (Gill et coll., 1996b; USDA-FSIS, 1996).

Les résultats de la présente étude ont montré un faible taux de contamination des carcasses avant traitement par les *E. coli* génériques (14,25%). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres chercheurs (Gill et coll., 2000; Nutsch et coll., 1998). Puisque la présence des *E. coli* sur les carcasses est le résultat d'une contamination fécale, leur détection dépend en grande partie du site de leur déposition et de leur redistribution par contamination croisée (Gill et coll., 1996c). Il a été démontré que la contamination colibacillaire était plus fréquente dans les régions de la poitrine, de la croupe et du cou (Reid et coll., 2002; Bell, 1997). Il faut aussi signaler qu'actuellement tous les programmes de sécurité microbiologique des aliments prônent le concept de tolérance zéro en matière de contamination fécale pendant l'abattage (USDA-FSIS) pour contrôler les infections dues aux *E. coli* vérotoxigènes (Heuvelink et coll., 2001). Tout traitement appliqué à la carcasse vise à réduire la population des *E. coli* à un niveau non détectable pour pouvoir rencontrer les normes de qualité et sécurité microbiologique.

2 Efficacité de la pasteurisation à la vapeur sur les organismes indicateurs

La pasteurisation des carcasses vise notamment à réduire la flore d'altération pour augmenter la durée de vie du produit. Toutefois, son but ultime est d'éliminer les bactéries pathogènes susceptibles d'affecter la santé des consommateurs. Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de la vapeur sur les différents microorganismes indicateurs de la qualité microbiologiques des carcasses. La température moyenne de pasteurisation des carcasses a été de 82,5°C et le temps moyen de pasteurisation a été de 6 secondes.

2.1 Flore mésophile totale

La réduction obtenue dans les comptes après un traitement thermique dépend de la charge microbiologique initiale à la surface des carcasses (Dorsa et coll., 1996a; Phebus et coll., 1997). Les résultats de cette étude ont démontré une réduction significative ($p < 0,05$) des comptes bactériens de la flore mésophile aérobie totale, immédiatement après pasteurisation. Ainsi, pour la réduction de la microflore initiale des carcasses, la pasteurisation à la vapeur s'est révélée efficace. Ces résultats sont en accord avec ceux de Phebus et coll. (1997) en conditions expérimentales et ceux rapportés par Nutsch et coll. (1998) pour la pasteurisation à la vapeur des carcasses bovines en situation d'abattage. Toutefois, ces études étaient limitées à certaines régions de la carcasse, comme recommandé par le USDA-FSIS (1996). Dans le but de réduire certains biais, la présente étude a suivi un plan d'échantillonnage aléatoire où sont représentées toutes les régions anatomiques à la surface des carcasses.

Néanmoins, les populations microbiennes retrouvées sur la carcasse, après le traitement, sont tributaires de la colonisation de surface pendant le processus d'abattage et les opérations post-abattage tels le parage ou le lavage et de l'efficacité du traitement employé (Charlebois et coll., 1991, Gill et coll., 1996c). Nutsch et coll. (1998) ont avancé que la réduction bactérienne, pendant le traitement, peut être limitée par une couverture incomplète de certains sites anatomiques, par la fluctuation de température du pasteurisateur ou par une action protectrice des liquides à la surface. En effet, certains auteurs ont rapporté que le stress peut augmenter l'habilité des bactéries à s'adhérer à la surface du muscle (Cabedo et coll., 1996) et, par conséquent, à échapper à certains types de traitement.

2.2 Coliformes totaux

Après traitement à la vapeur, on a observé une réduction significative ($p < 0,05$) de la charge microbienne moyenne dans les comptes des coliformes totaux. De même, la fréquence des coliformes sur les carcasses avant traitement de 33,99% a été réduite à 15,05% après pasteurisation. Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux obtenus par Nutsch et coll. (1998). En effet, ces auteurs ont rapporté une réduction de près de 90% des coliformes après traitement. Puisque les coliformes comportent à la fois des bactéries d'origine fécale et environnementale, cette réduction significative suggère que la pasteurisation à la vapeur est une technologie efficace pour contrôler la pollution fécale et environnementale. En plus, la réduction de la population des coliformes à un seuil non détectable laisse supposer que la vapeur a une action favorable dans le contrôle des pathogènes entériques.

2.3 *E. coli* totaux

Les résultats de cette étude ont montré une réduction significative ($p < 0,05$) des comptes bactériens des *E. coli* totaux immédiatement après traitement. Aussi, la pasteurisation à la vapeur a permis de réduire l'incidence de 15% avant pasteurisation à moins de 2% sur les carcasses traitées. Ces résultats sont en accord avec ceux de Nutsch et coll. (1998). Par contre, pour être conforme aux règles d'exportation la population des *E. coli* doit être à un niveau inférieur à 5 ufc/cm². La population des *E. coli* totaux est nettement inférieure aux normes recommandées (<5 ufc/ cm²) par le USDA, ce qui suggère que la pasteurisation contribue significativement à réduire le risques des bactéries entériques sur les carcasses (Nutsch et coll., 1998) dont certaines comme *E. coli* O157:H7 ont une dose minimale infectante très faible (10 à 100 bactéries par gramme d'aliment) (Uhtil et coll., 2001; Doyle, 1991). Comme *E. coli* représente l'indicateur le plus fiable pour prédire la présence d'éventuels pathogènes, on peut supposer que le traitement à la vapeur est un moyen efficace pour contrôler la sécurité microbiologique de la carcasse.

3 Effet de la réfrigération sur les microorganismes indicateurs

La réfrigération des carcasses constitue une étape complémentaire à la pasteurisation. Selon certaines études, le refroidissement contribue à réduire la croissance des bactéries mésophiles, groupe dans lesquels se retrouvent la majorité

des pathogènes. Cependant, la réfrigération peut favoriser la croissance des psychrotrophes qui comportent en grande partie des bactéries saprophytes tels les *Pseudomonas* mais également peut en contenir des pathogènes comme *Listeria monocytogenes* et *Yersinia enterocolitica*.

3.1 Flore mésophile totale

Au cours de cette étude, nous avons observé une tendance à la baisse des comptes bactériens de la flore mésophile totale après réfrigération comparé à ceux obtenus sur les carcasses traitées. Diverses études ont rapportées que les populations microbiennes à la surface de la carcasse peuvent augmenter ou diminuer ou rester intactes pendant le refroidissement (Gill et Bryant, 1997b). En effet, cette variation dépend essentiellement du type et de la vitesse de refroidissement ainsi que de la température atteinte à la surface (Gill et Bryant, 1997b). Le refroidissement par aspersion appliqué par l'abattoir, avec une température de surface proche de 0°C, permet d'expliquer cette réduction. Ces résultats sont en accord à ceux trouvés par Gill et Bryant (1997b) dans une étude portée sur les performances hygiéniques du refroidissement des carcasses. Ces auteurs ont démontré que la valeur des comptes totaux dépendait de la température de surface atteinte pendant le processus de refroidissement. D'autres auteurs ont indiqué que le chlore contenu dans l'eau d'aspersion pouvait également avoir un impact dans la réduction des contaminants à la surface des carcasses (Lisle et coll., 1998).

3.2 Coliformes totaux

Dans cette étude, il a été remarqué une légère diminution des comptes de coliformes après refroidissement. Ces résultats sont concordant avec ceux obtenus dans d'autres études qui soutiennent que le froid pourrait affecter davantage la croissance des bactéries à Gram-négatif que celles à Gram-positif (Calicioglu et coll., 1999; Gill et Bryant, 1997b).

3.3 *E. coli* totaux

Les résultats de cette étude ont démontré une faible réduction, après refroidissement, dans les comptes des *E. coli* ayant survécus aux traitements thermiques. Différents auteurs ont également rapporté une réduction importante des

E. coli après 24 heures de réfrigération (Calicioglu et coll., 1999; Gill et Bryant, 1997b). Ces résultats suggèrent que le refroidissement des carcasses contribue à augmenter l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur.

Cependant, il aurait été intéressant d'évaluer au cours de cette étude l'effet réel de la réfrigération sur des carcasses contrôles non traitées, mais les contraintes de l'environnement d'abattage ne nous permettaient pas de réaliser cette comparaison. En effet, l'abattoir étudié est muni d'un système automatisé permettant la pasteurisation systématique de toutes les carcasses suivant la ligne d'abattage. Néanmoins, nous pouvons avancer que la réfrigération des carcasses après pasteurisation concourt à renforcer l'effet antimicrobien de la pasteurisation.

4 Efficacité du traitement à la vapeur vis-à-vis des pathogènes

Bien que les indicateurs permettent d'apprécier la qualité hygiénique de la carcasse, ils ne peuvent pas assurer la sécurité microbiologique de celle-ci. Pour cela, il devient important de mesurer l'efficacité du traitement sur les principaux pathogènes susceptibles de contaminer le muscle pendant l'abattage.

4.1 *Salmonella* spp.

Les salmonelles sont des entérobactéries pathogènes qui devraient être absentes dans les produits destinés aux consommateurs. Les salmonelles peuvent contaminer les carcasses via les fèces pendant l'éviscération ou par l'environnement en cas de contamination croisée (Sofos et coll., 1999a, 1999b; Gill et coll., 1998b; Rahkio et Korkeala, 1997).

Dans cette étude, nous n'avons pas pu isoler de salmonelles avant et après pasteurisation. Par contre, une carcasse, après réfrigération, a donné un résultat positif pour *Salmonella* Typhimurium DT104. Cette faible prévalence pour les salmonelles peut s'expliquer par le faible taux de contamination des carcasses par les coliformes et les *E. coli* totaux. L'étude de Nutsch et coll. (1998) en conditions d'abattage s'est aussi avérée négative pour l'isolement de salmonelles. La présence de salmonelles sur une carcasse après réfrigération peut être expliquée soit par une répartition hétérogène de ces pathogènes à la surface de la carcasse (Sofos et coll., 1999a; Jericho et coll., 1996) ou encore par une possible contamination croisée avec les autres carcasses pendant la réfrigération (Gill et coll., 1998b; Gustavsson et

Borch, 1993). Généralement, la pasteurisation est considérée comme efficace dans le contrôle des salmonelles. En effet, une réduction très significative de salmonelles inoculées à la surface de carcasses par un traitement de pasteurisation a été démontrée dans l'étude de Dorsa et coll. (1996a).

4.2 *Listeria* spp.

Les *Listeria* sont des bactéries ubiquistes qui colonisent différents types de milieux. Parmi les *Listeria*, seule *L. monocytogenes* est généralement reconnue pathogène pour les humains (Farber et coll., 1996). De ce fait, nous avons étudié l'effet du traitement dans le contrôle de ce pathogène.

Au cours de cette étude, une augmentation significative de l'incidence de *Listeria monocytogenes* sur les carcasses après pasteurisation et après réfrigération a été observée. L'augmentation des *Listeria* après traitement permet de penser que la croissance de cette bactérie avant la pasteurisation a été inhibée par la flore compétitive, comme il a été démontré dans plusieurs travaux (Amezquita et Brashears 2002; Bredholt et coll., 1999). De même, la flore totale étant significativement réduite par la pasteurisation, la croissance des *Listeria* pourrait être favorisée lors de la culture puisque la flore de compétition a été en partie détruite pendant la pasteurisation. En plus, les *Listeria* sont des contaminants environnementaux qui peuvent être présents dans les aires d'abattage et par conséquent, peuvent constituer une source secondaire de contamination post-traitement (Jericho et coll. 2000b; Eisel et coll., 1997; Rahkio et Korkeala, 1997). Par ailleurs, plusieurs souches de *Listeria* sont reconnues pour leur résistance à la température de pasteurisation (Doyle et coll., 2001; Liu et coll., 2002). D'autres part, l'augmentation de l'incidence de *L. monocytogenes* après la réfrigération peut être expliquée par le caractère psychotrope de la bactérie (Liu et coll., 2002) qui lui permet de croître à une température avoisinant 0°C. En effet, plusieurs études ont rapporté une augmentation de l'incidence de *Listeria* dans les aliments pendant la réfrigération (Chasseignaux et coll., 2002; Glass et Doyle, 1989).

4.3 *Escherichia coli* O157

Les *E. coli* O157:H7 sont des colibacilles pathogènes responsables de graves symptômes chez les humains tels le SHU (syndrome hémolytique et urémique) et la

colite hémorragique (Cassin et coll., 1998; Doyle, 1991). Les bovins étant considérés comme le principal réservoir de *E. coli* O157:H7, il devient important de tester l'efficacité de la vapeur dans la réduction ou l'élimination de ce pathogène dans les carcasses bovines.

Au cours de cette étude, tous les échantillons analysés se sont avérés négatifs pour *E. coli* O157:H7. Ces résultats peuvent s'expliquer par le faible taux de contamination des carcasses par les bactéries entériques. Toutefois, l'absence de *E. coli* O157:H7 dans les échantillons ne signifie pas nécessairement qu'il est complètement absent des surfaces des carcasses testées étant donné que la contamination bactérienne n'est pas uniformément répartie sur tous les sites anatomiques (Bacon et coll., 2000; Sofos et coll., 1999b, 1999c), de même que leur isolement par culture est limitée par un seuil de détection. Par contre, la réduction obtenue pour *E. coli* devrait aussi se traduire par une diminution de la population des *E. coli* O157:H7 si cette bactérie devait être présente.

5 Représentativité de la méthode de recouvrement bactérien

Il est aussi important de souligner que les résultats des dénombrements bactériens totaux peuvent varier selon les procédures d'échantillonnage (Ransom et coll., 2002; Ware et coll., 2001; Gill et coll., 2001; Gill et Jones, 2000; Ware et coll., 1999; Dorsa et coll., 1996b). La technique par excision a souvent été présentée comme plus efficace que les autres méthodes d'échantillonnage. Cependant, Dorsa et coll. (1996b) et Gill et Jones (2000) ont démontré que la méthode de chiffonnage avec des gazes produit des résultats similaires à la méthode par excision, notamment pour le décompte de bactéries aérobies sur une surface de 100 cm². Un recouvrement équivalent pour les différentes méthodes de dénombrement pour les comptes totaux, les coliformes totaux ainsi que les *E. coli* avant réfrigération a aussi été rapporté par Ware et coll. (1999). Toutefois, cette même étude montre une différence significative dans le recouvrement après refroidissement qui pourrait être due à l'attachement des cellules à la surface des carcasses pendant la réfrigération. Cependant, une étude récente démontre que la pasteurisation à la vapeur n'a pas d'effets favorables ou d'inhibition sur l'adhésion des bactéries à la surface des carcasses (Wariner et coll., 2001).

Par ailleurs, il faut souligner que l'énumération des bactéries pathogènes dans les aliments dépend de la sensibilité de la méthode de détection utilisée. Les méthodes de détection utilisant les procédés basés sur la détection du matériel génétique, comme la PCR, sont les plus sensibles. Leur limite de détection varie de 1 à 10 bactéries par gramme d'aliment. Les méthodes utilisées pour rechercher les pathogènes dans cette étude sont des méthodes qualitatives, c'est-à-dire basées sur la présence ou l'absence des bactéries. Les enrichissements effectués permettent en général d'obtenir une sensibilité appréciable de 10 à 100 bactéries par gramme d'aliments. Dans la mesure où la limite de détection de nos méthodes avoisine la dose minimale infectante (pour *E. coli* O157:H7, la dose infectante est de 10 à 100 bactéries par gramme d'aliment), nous pouvons avancer que la non détection de certains pathogènes procure une certaine garantie quant à la sécurité microbiologique de la carcasse.

6 Facteurs de virulence des isolats identifiés sur les carcasses

L'un des objectifs majeurs de cette étude était de tester les isolats obtenus sur les carcasses pour différents facteurs associés à leur pouvoir pathogène. En effet, les microorganismes doivent être dotés de structures particulières dénommées facteurs de virulence pour pouvoir initier une infection chez l'hôte. La recherche de ces facteurs devient dès lors un élément clé pour mieux caractériser le risque associé à la présence de certaines bactéries potentiellement pathogènes.

6.1 Prévalence des facteurs de virulence des isolats de *E. coli*

Puisque les bovins sont reconnus comme le réservoir de certains *E. coli* pathogènes, en particulier les *E. coli* vérotoxigènes, nous avons recherché la présence de certains gènes associés à la virulence de cette espèce. Au cours de cette étude, seulement 14,68% de nos isolats de *E. coli* étaient dotés de un ou plusieurs facteurs de virulence connus. D'un autre point de vue, cela représente 11,88% des isolats obtenus avant pasteurisation, 22,21% des isolats obtenus après pasteurisation et 31,25% des isolats obtenus après réfrigération (Tableau 5). Il faut également signaler que les isolats obtenus après refroidissement appartiennent uniquement à deux pathotypes soit Aéro et VT2+Hyl-EHEC. Autre fait intéressant, les pathotypes sont très différents suivant l'étape d'isolement. Ainsi, le gène *eae* (responsable des

lésions attachantes et effaçantes) et le gène qui code pour l'hémolysine alpha sont rencontrés uniquement chez les isolats obtenus avant pasteurisation. Les gènes qui codent pour l'entérohémolysine et les toxines VT1 et VT2 sont prédominants chez les isolats obtenus après traitement et après refroidissement. De même, le gène qui code pour l'aérobactine est prédominant chez les isolats obtenus avant pasteurisation. Cette variation dans le profil génétique des *E. coli* suggère que la population est très diversifiée en terme de sérovars, et que les bactéries qui possèdent certains gènes de virulence sont plus résistantes aux conditions adverses de l'environnement (Rowe et Kirk, 2000; Harel et Martin, 1999), en particulier à certaines températures de pasteurisation.

Par ailleurs, tous les gènes de virulence portés par ces isolats bovins ont été incriminés seul ou en groupes dans des cas de pathologie chez les humains (Oelschlaeger et coll., 2002; Doyle et coll., 1997; Meng et coll., 1998; Orskov et Orskov, 1992). Les CFA sont responsables de l'attachement des bactéries à la surface de la muqueuse de l'homme. Les fimbriae P (*pap*), les CNF, les AFA et l'aérobactine sont généralement rencontrés chez les souches UPEC, qui sont responsables d'infection du tractus urinaire chez les humains. L'absence de ces facteurs de virulence chez les isolats obtenus après refroidissement permet d'avancer l'hypothèse que la vapeur contribuerait à diminuer la présence des souches UPEC sur les carcasses. De même pour l'hémolysine alpha, qui est, également, associée à des cas d'infections urinaires ainsi que des cas de septicémie et de méningite chez l'homme (Orskov et Orskov, 1992).

Les vérotoxines (VT1 et VT2) sont responsables de diarrhées sanguinolentes et du syndrome hémolytique et urémique chez l'humain (Doyle et coll., 1997). Le gène qui code pour la synthèse de la toxine VT2 a été détecté après traitement. En plus, ce gène a été détecté conjointement avec le gène qui code pour l'entérohémolysine, laquelle est rencontrée dans 90% des souches EHEC (Gyles, 1994). La présence de deux pathotypes VT2+HlyEHEC après réfrigération suggère que les bovins peuvent être la voie de transmission de VTEC autre que *E. coli* O157:H7 (Ganzalez-Garcia, 2002). Toutefois, le gène *eae* est en général présent chez les souches VTEC (Meng et coll., 1998), ce que l'on n'a pas trouvé dans cette étude. On pourrait penser que les souches porteuses du gène *eae* ont été plus sensibles à l'effet de la pasteurisation. Bien que ce soit le gène le plus fréquent pour l'ensemble

de nos isolats, on n'a pas pu déceler sa présence dans aucun de nos isolats après le traitement ainsi qu'après réfrigération. Toutefois, la faible prévalence obtenue dans cette étude ne permet de confirmer cette hypothèse. Par ailleurs, d'après certains auteurs les souches EHEC *eae*-négative appartiennent à des lignées différentes de celles qui sont *eae*-positive et, elles constituent moins de 10% de la population des EHEC (Boerlin et coll., 1998).

6.2 Prévalence des facteurs de virulence des isolats *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est un pathogène intracellulaire qui envahit et se multiplie à l'intérieur des cellules des mammifères. Cette bactérie est un pathogène alimentaire qui affecte principalement les enfants, les vieillards et les individus immunodéprimés causant de maladies sévères telles septicémies, encéphalites et méningites (Schuchat et coll., 1991). *L. monocytogenes* est aussi responsable de cas d'avortements chez les femmes enceintes. En plus, elle infecte les personnes saines en causant de la fièvre, des vomissements et des diarrhées (Jaradat et coll., 2002). Différents facteurs tels l'internaline (codée par *inlA* et *inlB*), l'hémolysine (*hly*), la phospholipase C (*plcA* et *plcB*) jouent un rôle majeur dans la virulence des souches de *L. monocytogenes*. La caractérisation génétique de *L. monocytogenes* est nécessaire pour établir une différenciation entre les souches. De même, elle sert à discriminer les souches provenant des cas sporadiques ou épidémiques, des aliments ou des animaux (Jaradat et coll., 2002). Au cours de cette étude, tous les isolats de *L. monocytogenes* ont été positifs pour les trois principaux facteurs de virulence qui ont été testés. La présence des gènes de virulence (*hlyA*, *inlB* et *plcB*) révélée par PCR chez tous les isolats suggèrent que tous sont potentiellement pathogènes pour l'humain. Amoril et Bhunia (1999) ont pu aussi démontrer que les isolats provenant des aliments étaient cytopathogènes donc capables d'infecter *in vitro* les tissus animaux. Dans cette étude on n'a pas pu démontrer de polymorphisme dans les gènes de virulence de *L. monocytogenes*. En général, les produits de PCR des gènes de virulence ne montrent pas de polymorphisme chez *L. monocytogenes* (Jaradat et coll., 2002) sauf pour le gène *actA* lequel on n'a pas testé au cours de cette étude.

7 Antibiorésistance des souches pathogènes

La résistance des bactéries aux antibiotiques constitue une préoccupation majeure tant en médecine humaine que vétérinaire. Il est reconnu que l'utilisation des agents antimicrobiens chez les animaux et les humains peut sélectionner des populations bactériennes résistantes (Schroeder et coll., 2003; McDermott et coll., 2002). Chez les animaux d'élevage, les antimicrobiens sont utilisés pour contrôler et traiter les maladies infectieuses bactériennes et aussi comme promoteur de croissance. L'une des conséquences indésirables de l'utilisation des antimicrobiens chez les animaux est le développement de potentiels agents pathogènes zoonotiques résistants et leur transmission éventuelle à l'homme par des aliments contaminés (White et coll., 2001; Tollefson et Miller, 2000). Dans la présente étude, nous avons testé la susceptibilité et la résistance de nos isolats bovins potentiellement pathogènes aux différents agents antimicrobiens couramment utilisés pour la thérapie tant en médecine humaine que vétérinaire afin d'évaluer les risques associés à leur présence.

7.1 *E. coli*

L'antibiorésistance des isolats de *Escherichia coli* obtenus sur des denrées alimentaires a été documentée dans plusieurs études (Schroeder et coll., 2003; White et coll., 2001). Les résultats rapportés ont montré en général une augmentation de la résistance parmi des souches de *E. coli* pathogènes contre certains antibiotiques couramment utilisés en médecine humaine et vétérinaire (Bettelheim et coll., 2003). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques réalisée au cours de cette étude a montré une résistance vis-à-vis de la streptomycine (37%), de la tétracycline (30%), de la triméthoprim/sulfaméthoxazole (12%), de l'ampicilline (8%), du chloramphénicol (4%) et une sensibilité intermédiaire pour l'ampicilline (4%) et la céphalothine (4%). Ces résultats sont en accord à ceux trouvés dans certaines études qui ont rapporté une résistance aux tétracyclines, à la streptomycine, aux sulfamides et à l'ampicilline (Schroeder et coll., 2003; White et coll., 2001). Néanmoins, ces résultats montrent que certains antibiotiques tels la gentamicine, l'amoxicilline/acide clavulanique, l'enrofloxacin, la céfoxitine, le ceftiofur gardent une excellente activité contre les *E. coli*. *E. coli* est considéré comme l'une des bactéries capables de transférer les résistances acquises aux autres bactéries pathogènes à travers des échanges de plasmides, de transposons ou d'intégrons (Schroeder et coll., 2003; White et coll.,

2002). La présence de *E. coli* dans les aliments représente une sérieuse menace pour la santé des consommateurs, non seulement par les infections qu'elles initient mais surtout par leur capacité à transférer leur résistance aux autres pathogènes alimentaires. Ces résultats confirment donc que les aliments d'origine animale tels la viande de bovins peuvent constituer une source potentielle de transmission de *E. coli* pathogènes résistantes aux agents antimicrobiens pour l'homme.

7.2 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est un pathogène alimentaire qui représente une menace pour la santé publique par le fait même que cette bactérie continue à croître à la température d'entreposage des aliments. Cette menace pourrait être encore plus importante si ces isolats développaient des phénotypes résistants aux agents thérapeutiques. Généralement les isolats de *L. monocytogenes* sont réputés sensibles à un spectre assez large d'antibiotiques (Prazak et coll., 2002; Vela et coll., 2001). Par contre, de plus en plus de résultats de recherche commencent à relater l'apparition de souches de *L. monocytogenes* résistantes suite à l'acquisition de matériel génétique (plasmides, transposons, intégrons) provenant d'autres bactéries résistantes en particulier du genre *Staphylococcus* (Antunes et coll., 2002; White et coll., 2002). Les résultats de cette étude ont montré une sensibilité complète pour tous les antibiotiques testés sauf pour la clindamycine. Les récentes études rapportent en général un taux de résistance à la clindamycine très élevé chez *L. monocytogenes* (Antunes et coll., 2002; Prazak et coll., 2002; Vela et coll., 2001), ce qu'on n'a pu constater au cours de nos antibiotypies. Néanmoins, ces résultats permettent de confirmer que les *L. monocytogenes* isolés sur les aliments gardent leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques usuels.

7.3 *Salmonella* Typhimurium DT104

Toxi-infections alimentaire et résistance aux antibiotiques constituent les deux principales menaces de *Salmonella* Typhimurium pour la santé publique, compte tenu que cette bactérie est un important pathogène alimentaire (Logue et coll., 2003; Bacon et coll., 2002). Une augmentation de la résistance multiple aux antibiotiques a été rapportée chez certains isolats de *S. Typhimurium*, en particulier le phagotype DT104, dans plusieurs pays y compris le Canada (Threlfall et coll.,

2003; Poppe et coll., 2002; Yang et coll., 2001). Cette multirésistance a été notée, entre autres, pour l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfamides et les tétracyclines. Les résultats de cette étude montrent que notre isolat de *S. Typhimurium* est doté d'un phénotype résistant pour l'ampicilline, le chloramphénicol et streptomycine et présente une sensibilité intermédiaire aux tétracyclines. Ces résultats permettent de confirmer la présence de souches de *S. Typhimurium* multirésistantes aux agents antimicrobiens, qui sont susceptibles d'être transmises par le biais des aliments contaminés à l'homme (White et coll., 2002; Bacon et coll., 2002; Yang et coll., 2001).

8 Effet de la vapeur sur la température et le pH ultime du muscle

8.1 Température intramusculaire

Les traitements thermiques appliqués aux carcasses peuvent affecter certains paramètres qui déterminent les qualités organoleptiques de la viande, notamment la couleur et l'odeur qui constituent les premiers critères d'appréciation de la qualité de la viande par les consommateurs. La température de pasteurisation appliquée induit un chauffage à la surface de la carcasse qui s'accompagne promptement par un changement de couleur. Au cours de cette étude, la température du muscle, prise immédiatement après le traitement à la vapeur, n'a montré aucune augmentation. Par contre, on a noté un changement notable de la couleur de la carcasse qui blanchit tout de suite après pasteurisation. On peut, donc, avancer que la température appliquée pendant le traitement, hormis ses effets de blanchiment à la surface de la carcasse, ne favorise pas un début de cuisson appréciable du muscle, ce qui pourrait affecter certaines enzymes intervenant dans le processus de maturation de la viande. Par ailleurs, la température intramusculaire moyenne de 3,5°C atteint après refroidissement indique un bon processus de refroidissement de la carcasse dans l'établissement étudié. On a observé également que le refroidissement d'un jour de la carcasse a contribué en partie au recouvrement de la couleur rosée du muscle tant appréciée par les consommateurs.

8.2 pH ultime

Le pH ultime du muscle est un facteur important des paramètres organoleptiques (Page et coll., 2001; Wulf et Page, 2000). En effet, la vitesse et l'intensité de la chute du pH *post mortem* sont corrélées avec l'évolution de la maturation et peuvent être considérées comme des prédicteurs de la qualité de la viande (Watanabe et coll., 1996). Aussi, le pH est le facteur qui influe le plus sur la couleur du muscle, et cette dernière constitue le premier critère utilisé par les consommateurs pour juger de la qualité de la viande. Le pH du *Longissimus*, après 24 heures *post mortem*, peut varier de 5,50 à 6,10, dépendamment de la vitesse d'acidification du muscle. Au cours de cette étude, la valeur moyenne des pH montre une diminution significative après 18 heures de réfrigération. Ces résultats suggèrent que le traitement à la vapeur n'a aucune influence sur le processus d'acidification du muscle. Par contre, la chute de pH du muscle dépend de l'état physiologique (stress, fatigue) de l'animal pendant l'abattage et de sa réserve en glycogène (Galland, 1997).

9 Conclusion

En résumé, les résultats de cette étude révèlent que :

- a) La pasteurisation à la vapeur, telle qu'appliquée dans l'abattoir étudié, contribue à diminuer significativement les comptages bactériens totaux, ainsi que les comptages en coliformes et *E. coli* sur les carcasses de bovins.
- b) Cette technique est donc un moyen efficace pour réduire la contamination microbienne consécutive aux opérations d'abattage.
- c) Les taux de contamination par des bactéries pathogènes telles *E. coli* O157:H7 ou *Salmonella* spp. obtenus dans cette étude sont trop faibles pour tirer des conclusions quant à l'efficacité de la pasteurisation contre ces bactéries. Toutefois, dans la mesure où les bactéries indicatrices utilisées permettent d'évaluer les risques de contamination par ces pathogènes, la pasteurisation est considérée efficace pour réduire les

risques de contamination par des bactéries pathogènes dans le cadre de l'application d'un modèle HACCP à l'abattoir.

- d) Par ailleurs, l'augmentation des *Listeria monocytogenes* après traitements représente un problème majeur qui pourrait amoindrir l'effet bénéfique de la pasteurisation dans l'amélioration de la sécurité microbiologique des carcasses.

V- BIBLIOGRAPHIE

1. **Acuff G.R., Castillo A., Savell L.W.** 1996. Microbiological intervention methods: Hot water rinses, p. 125-128. *In* proceedings 49th Reciprocal meat conference proceedings. Provo, Utah, Chicago, IL.
2. **Adams M.R., Moss M.O.** 2000. Food Microbiology. Adams, M. R. Cambridge : Royal Society of Chemistry. 2nd edition.
3. **Amezquita A., Brashears M.M.** 2002. Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. J. Food Prot. 65(2): 316-325.
4. **Amoril J.G., Bhunia A.K.** 1999. Immunological and cytopathogenic properties of *Listeria monocytogenes* isolated from naturally contaminated meats. J. Food Safety. 19: 195-207.
5. **Anderson R.C., Buckley S.A., Callaway T.R., Genovese K.J., Kubena L.F., Harvey R.B., Nisbet D.J.** 2001. Effect of sodium chlorate on *Salmonella* Typhimurium concentrations in the weaned pig gut. J. Food Prot. 64: 255-258.
6. **Anonyme.** 2001. Risk of enteric illness associated with travel: a case review of gastroenteritis among Canadian travellers: January to April, 2000. Can. Commun. Dis. Rep. 27(6): 45-49.
7. **Antunes P., Reu C., Sousa J.C., Pestana N., Peixe L.** 2002. Incidence and susceptibility to antimicrobial agents of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* isolated from poultry carcasses in Porto, Portugal. J. Food Prot. 65(12): 1888-1893.
8. **Bacon R.T., Belk K.E., Sofos J.N., Clayton R.P., Reagan J.O., Smith G.C.** 2000. Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. J. Food Prot. 63(8): 1080-1086.

9. **Bacon R.T., Sofos J.N., Belk K.E., Hyatt D.R., Smith G.C.** 2002. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* isolated from beef animal hides and carcasses. *J. Food Prot.* 65(2): 284-290.
10. **Barkarate M.L., Acuff G.R., Lucia L.M., Hale D.S.** 1993. Hot water decontamination of beef carcasses for reduction of initial bacterial numbers. *Meat Sci.* 35: 397-401.
11. **Batt C.A.** 2000. *Escherichia coli*, p. 633-645. In Robinson R.K., Batt C.A et Patel P.D. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, San Diego (California).
12. **Beach J.C., Murano, E.A., Acuff G.R.** 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in beef cattle from transport to slaughter. *J. Food Prot.* 65(11): 1687-1193.
13. **Bell R.G.** 1997. Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *J. Appl. Microbiol.* 82: 292-300.
14. **Benedict R.C.** 1988. Microbiol attachment to meat surfaces. *Reciprocal Meat Conf. Proc.* 41: 1-6.
15. **Berry E.D., Koohmaraie M.** 2001. Effect of different levels of beef bacterial microflora on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 on beef carcass tissue. *J. Food Prot.* 64(8): 1138-1144.
16. **Bettelheim K.A., Hornitzky M.A., Djordjevic S.P., Kuzevski A.** 2003. Antibiotic resistance among verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and non-VTEC isolated from domestic animals and humans. *J. Med Microbiol.* 52(2): 155-62.

17. **Blais B., Philippe L.** 1993. A simple RNA probe system for analysis of *Listeria monocytogenes* polymerase chain reaction product. *Appl. Env. Microbiol.* 59(9): 2795-2800.
18. **Boerlin P., Chen S., Colbourne J.K., Johnson R., De Grandis S., Gyles C.** 1998. Evolution of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin plasmids and the locus for enterocyte effacement in shiga toxin-producing *E. coli*. *Infect. Immun.* 66(6): 2553-2561.
19. **Bolton D.J., Doherty A.M., Sheridan J.J.** 2001. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *Int. J. Food Microbiol.* 66(1-2): 119-129.
20. **Bowling R.A., Clayton R.P.** 1992. Method for dehairing animals. US Patent No 5,149,295. Moncfort Inc, Greely, CO.
21. **Bredholt S., Nesbakken T., Holck A.** 1999. Protective cultures inhibit growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in cooked, sliced, vacuum- and gas-packaged meat. *Int. J. Food Microbiol.* 53(1): 43-52.
22. **Brown M.H., Baird-Parker A.C.** 1982. The microbiological examination of meat, p. 423-520, *In* Brown M.H (ed). *Meat Microbiology*. London, Applied Science Publisher.
23. **Brownlie L.E., Grau F.H.** 1967. Effect of food intact on growth of and survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* in the bovine rumen. *J. Gen. Microbiol.* 46: 125-134.
24. **Butler J.L., Stewart J.C., Vanderzant C., Carpenter Z.L., Smith G.C.** 1979. Attachment of microorganisms to pork skin and surfaces of beef and lamb carcasses. *J. Food Prot.* 42: 401-406.
25. **Byrne C.M., Bolton D.J., Sheridan J.J., Blair I.S., McDowell D.A.** 2002. The effect of commercial production and product formulation stresses on the heat

resistance of *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900) in beef burgers. Int. J. Food Microbiol. 79(3): 183-192.

26. **Cabanes D., Dehoux P., Dussurget O., Frangeul L., Cossart P.** 2002. Surface proteins and the pathogenic potential of *Listeria monocytogenes*. Trends Microbiol. 5: 238-245.
27. **Cabedo L., Sofos J.N., Schmidt G.R., Smith G.C.** 1996. Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 and other bacterial cells grown in two media to beef adipose and muscle tissue. J. Food Prot. 60(2): 102-106.
28. **Calicioglu M., Buege D.R., Ingham S.C., Luchansky J.B.** 1999. Recovery of *Escherichia coli* Biotype I and *Enterococcus* spp. during refrigerated storage of beef carcasses inoculated with a fecal slurry. J. Food Prot. 62(8): 944-947.
29. **Cartie P.** 1990. Méthodologie de contrôle de la qualité hygiénique d'un avant de bovins. Viandes et produits carnés. 11: 215-216.
30. **Cassin M.H., Lammerding A.M., Todd E.C.D., Ross W., McColl R.S.** 1998. Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef hamburgers. Int. J. Food Microbiol. 41: 21-41.
31. **Castillo A., Lucia L.M., Goodson K.J., Savell J.W., Acuff G.R.** 1998a. Use of hot water for beef carcass decontamination. J. Food Prot. 61(1): 19-25.
32. **Castillo A., Lucia L.M., Goodson K.J., Savell J.W., Acuff G.R.** 1998b. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. J. Food Prot. 61(7): 823-828.
33. **Castillo A., Dickson J.S., Clayton R.P., Lucia L.M., Acuff G.R.** 1998c. Chemical dehairing of bovine skin to reduce pathogenic bacteria of fecal origin. J. Food Prot. 61: 623-625.

34. **Caya F., Fairbrother J.M., Lessard L., Quessy S.** 1999. Characterization of the risk to human health of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chicken carcasses. *J. Food Prot.* 62(7): 741-6.
35. **Chapman P.A.** 2000. Sources of *Escherichia coli* O157 and experiences over the past 15 years in Sheffield, UK. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* (29): 51S-60S.
36. **Charlebois R., Trudel R., Messier S.** 1991. Surface contamination of beef carcass by faecal coliforms. *J. Food Prot.* 54: 960-956.
37. **Chasseignaux E., Gerault P., Toquin M.T., Salvat G., Colin P., Ermel G.** 2002. Ecology of *Listeria monocytogenes* in the environment of raw poultry meat and raw pork meat processing plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 210(2): 271-275.
38. **Chung K.T., Dickson J.S., Crousse J.D.** 1989. Attachement and proliferation of bacteria on meat. *J. Food Prot.* 52: 173-177.
39. **Corrier D.E., Purdy C.W., DeLoach J.R.** 1990. Effects of marketing stress on fecal excretion of *Salmonella* spp. in feeder calves. *Am. J. Vet. Res.* 51(6): 866-869.
40. **Cossart P.** 1998. Interactions of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* with mammalian cells: bacterial factors, cellular ligands, and signaling. *Folia. Microbiol.* 43: 291-303.
41. **Costerson J.W., Irving R.T., Cheng K.J.** 1981. The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 35: 299-324.
42. **Cowart R.E., Lashmet J., McIntosh M.E., Adams T.J.** 1990. Adherence of a virulent strain of *Listeria monocytogenes* to the surface of a hepatocarcinoma cell line via lectin-substrate interaction. *Arch. Microbiol.* 153(3): 282-286.

43. **Cox J.** 2000. *Salmonella*, p. 1928-1943. In Robinson R.K , Batt C.A et Patel P.D. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press, San Diego (California).
44. **Cutter C.N., Rivera-Betancourt M.** 2000. Interventions for the reduction of *Salmonella* Typhimurium DT 104 and non-O157:H7 enterohemorrhagic *Escherichia coli* on beef surfaces. J. Food Prot. 63(10): 1326-1332.
45. **D'Aoust J.Y.** 1997. *Salmonella* species, p.129-158. In Doyle MP, Beuchat L R, Montville TJ (ed), Food microbiology: Fundamentals and frontiers. ASM Press, Washington, D.C.
46. **Davies M.H., Hadley P.J., Stosic P.J., Webster S.D.** 2000. Production factors that influence the hygienic condition of finished beef cattle. Vet. Rec. 146(7): 179-183.
47. **Dean-Nystrom E.A., Gansheroff L.J., Mills M., Moon H.W., O'Brien A.D.** 2002. Vaccination of pregnant dams with intimin(O157) protects suckling piglets from *Escherichia coli* O157:H7 infection. Infect. Immun.70(5): 2414-2418.
48. **Delmore R.J., Sofos J.N., Schmidt G.R., Belk K.E., Lloyd W.R., Smith G.C.** 2000. Interventions to reduce microbiological contamination of beef variety meats. J. Food Prot. 63(1): 44-50.
49. **Dennaï N., Kharrati B., EL Yachioui M.** 2001. Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. Annu. Méd. Vet. 145: 270-274.
50. **Dickson J.S., Frank J.F.** 1993. Bacterial starvation stress and contamination of beef. Food microbiol. 10: 215-222.

51. **Diez-Gonzalez F., Callaway T.R., Kizoulis, M.G., Russell J.B.** 1998. Grainfeeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle. *Science*. 281(5383): 1666-1668.
52. **Donnelly C.W.** 2001. *Listeria monocytogenes*: a continuing challenge. *Nutr. Rev.* 59(6): 183-194.
53. **Dormedy E.S., Brashears M.M., Cutter C.N., Burson D.E.** 2000. Validation of acid washes as critical control points in hazard analysis and critical control point systems. *J. Food Prot.* 63(12): 1676-1680.
54. **Dorsa W.J., Cutter C.N., Siragusa G.R., Koohmaraie M.** 1996a. Microbiol decontamination of beef and sheep carcasses by steam, hot water spray washes, and a steam-vacuum sanitizer. *J. Food Prot.* 59(2): 127-135.
55. **Dorsa W.J., Cutter C.N., Siragusa G.R.** 1996b. Evaluation of six sampling methods for recovery of bacteria from beef carcass surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.* 22(1): 39-41.
56. **Doyle M.E., Mazzotta A.S., Wang T., Wiseman D.W., Scott V.N.** 2001. Heat resistance of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* 64(3): 410-429.
57. **Doyle M.P.** 1991. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 12(4): 289-301.
58. **Doyle M.P., Zhao T., Meng J., Zhao S.** 1997. *Escherichia coli* O157:H7, p.171-191. In Doyle MP, Beuchat L R, Montville TJ (ed), *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C.
59. **Duffy G., Whiting R.C., Sheridan J.J.** 1999. The effect of a competitive microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* 16: 299-307.

60. **Eisel W.G., Linton R.H., Muriana P.M.** 1997. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environment sources, and ground beef in a red meat processing plant. *Food microbiol.* 14: 273-282.
61. **Elder R.O., Keen J.E., Siragusa G.R., Barkocy-Gallagher G.A., Koohmaraie M., Laegreid W.W.** 2000. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(7): 2999-3003.
62. **Ericson H., Unnerstad H., Mattsson J.G., Danielsson-Tham M.L., Tham W.** 2000. Molecular grouping of *Listeria monocytogenes* based on the sequence of the *inlb* gene. *J. Med Microbiol.* 49: 73-80.
63. **Faber J.M., Ross W.H., Harwig J.** 1996. Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. *Int. Food Microbiol.* 30: 145-156.
64. **Firstenberg-Eden R.** 1981. Attachment of bacteria to meat surfaces: a review. *J. Food Prot.* 44: 602-606.
65. **Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture.** 1996. Pathogen reduction; Control point systems Hazard Analysis and Critical. *Federal Register.* 61 (144): 38805-38889.
66. **Galland J.C.** 1997. Risks and prevention of contamination of beef carcasses during the slaughter process in the United States of America. *Rev. Sci. Tech.* 16: 395-404.
67. **Gonzalez-Garcia E.A.** 2002. Animal health and foodborne pathogens: enterohaemorrhagic O157:H7 strains and other pathogenic *Escherichia coli* virotypes (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC). *Pol. J. Vet. Sci.* (2): 103-115.
68. **Gay J.M., Rice D.H., Steiger J.H.** 1994. Prevalence of fecal *Salmonella* shedding by cull dairy cattle marketed in Washington State. *J. Food Prot.* 57(3): 195-197.

69. **Gill C.O., Bryant J.** 1997a. Decontamination of carcasses by vacuum-hot water cleaning and steam pasteurizing during routine operations at beef packing plant. *Meat Sci.* 47: 267-276.
70. **Gill C.O., Bryant J.** 1997b. Assessment of hygienic performances of two beef carcass cooling processes from product temperature history data or enumeration of bacteria on carcass surfaces. *Food Microbiol.* 14: 593-602.
71. **Gill C.O., Jones T.** 1997. Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food microbiol.* 14: 81-91.
72. **Gill C.O., Jones T.** 1999. The microbiological effects of breaking operation on hanging beef carcass sides. *Food Res. Int.* 32: 453-459.
73. **Gill C.O., Jones T.** 2000. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *J. Food Prot.* 63(2): 167-173.
74. **Gill C.O., McGinnis J.C.** 1999. Improvement of the hygienic performance of the hindquarters skinning operations at a beef packing plant. *Int. J. Food Microbiol.* 51(2-3): 123-132.
75. **Gill C.O., McGinnis J.C.** 2000. Contamination of beef trimmings with *Escherichia coli* during a carcass breaking process. *Food Res. Inter.* 33: 125-130.
76. **Gill C.O., Baldoni M., Jones T.** 1996c. Hygienic effects of trimming and washing operations in beef carcass-dressing process. *J. Food Prot.* 59: 666-669.
77. **Gill C.O., Baldoni M., McGinnis J.C.** 2001. Microbiological sampling of meat cuts and manufacturing beef by excision or swabbing. *J. Food Prot.* 64(3): 325-334.
78. **Gill C.O., Bedard D., Jones T.** 1997. The decontaminating performances of a commercial apparatus for pasteurizing polished pig carcasses. *Food microbiol.* 14: 71-79.

79. **Gill C.O., Bryant J., Bedard D.** 1999. The effects of hot water pasteurizing treatments on the appearances and microbiological conditions of beef carcass sides. *Food microbiol.* 16: 281-289.
80. **Gill C.O., McGinnis J.C., Badoni M.** 1996a. Use of total or *Escherichia coli* counts to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *Int. Food Microbiol.* 31: 181-196.
81. **Gill C.O., McGinnis J.C., Badoni M.** 1996b. Assessment of the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. *J. Food Prot.* 59(2): 136-140.
82. **Gill C.O., McGinnis J.C., Bryant J.** 1998a. Microbiological contamination of meat during the skinning of beef carcass hindquarters at three slaughtering plants. *Int. J. Food Microbiol.* 42: 175-184.
83. **Gill C.O., Deslandes B., Rahn K., Houde A., Bryant J.** 1998b. Evaluation of the hygienic performances of the processes for beef carcass dressing at 10 packing plants. *J. Appl. Microbiol.* 84(6): 1050-1058.
84. **Gill C.O., Jones T., Bryant J., Brereton D.A.** 2000. The microbiological conditions of the carcasses of six species after dressing at a small abattoir. *Food Microbiol.* 17: 233-239.
85. **Gilot P., Andre P., Content J.** 1999. *Listeria monocytogenes* possesses adhesins for fibronectin. *Infect. Immun.* 67(12): 6698-6701.
86. **Glass K.A., Doyle M.P.** 1989. Fate of *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. *Appl. Environ. Microbiol.* (6): 1565-1569.
87. **Gorman B.M., Sofos J.N., Morgan J.B., Schmidt G.R., Smith G.C.** 1995. Evaluation of hand-trimming, various sanitizing agents, and hot water spray-

washing as decontamination interventions for beef brisket adipose tissue. J. Food Prot. 58: 899-907.

88. **Grau F.H., Brownlie L.E., Roberts E.A.** 1968. Effects of some preslaughter treatments on the *Salmonella* population in the bovine rumen and feces. J. Appl. Bacteriol. 31: 157-163.
89. **Graves Delmores L.R., Sofos J.N, Schmidt G.R., Smith G.C.** 1997. Inactivation of pathogenic bacteria by the chemical dehairing process proposed for use on beef carcasses during slaughter, p.163-164. In proceeding of 50th animal reciprocal meats conference. Ames, Iowa State Univrsity.
90. **Gustavsson P., Borch E.** 1993. Contamination of beef carcasses by psychrotrophic *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* at different stages along the processing line. Int. J. Food Microbiol. 20(2): 67-83.
91. **Guyon R., Dorey F., Malas J.P., Leclercq A.** 2001. Hazard analysis of *Escherichia coli* O157:H7 contamination during beef slaughtering in Calvados, France. J. Food Prot. 64(9): 1341-1345.
92. **Gyles C.L.** 1994. *Escherichia coli* verotoxins and other cytotoxins, p. 365-398. In C.L Gyles (ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Guelph, Canada.
93. **Harel J., Martin C.** 1999. Virulence gene regulation in pathogenic *Escherichia coli*. Vet. Res. 30(2-3): 131-155.
94. **Hasson I.B.** 2001. Microbiological meat quality in high- and low-capacity slaughterhouse in Sweden. J. Food Prot. 64(6): 820-825.
95. **Heuvelink A.E., Roessink G.L., Bosboom K., de Boer E.** 2001. Zero-tolerance for faecal contamination of carcasses as a tool in the control of O157 VTEC infections. Int. J. Food Microbiol. 66: 13-20.

96. **Hof H.** 2003. History and epidemiology of listeriosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 35(3): 199-202.
97. **Huffman R.D.** 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci.* 62: 285-294.
98. **Iida T., Kanzaki M., Nakama A., Kokubo Y., Maruyama T., Kaneuchi C.** 1998. Detection of *Listeria monocytogenes* in humans, animals and foods. *J. Vet. Med. Sci.* 60(12): 1341-1343.
99. **Jaradat ZW, Bhunia AK.** 2003. Adhesion, Invasion, and Translocation Characteristics of *Listeria monocytogenes* Serotypes in Caco-2 Cell and Mouse Models. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(6): 3640-3645.
100. **Jaradat Z.W., Schutze G.E., Bhunia A.K.** 2002. Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meat products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.* 76: 1-10.
101. **Jay J.M.** 1995. Foods with low number of microorganisms may not be safest food or, why did human listeriosis and hemorrhagic colitis become foodborne diseases? *Dairy Food Environ. Sanit.* 15: 674-677.
102. **Jericho K.W.F., Kozub G.C., Gannon V.P.J., Taylor C.M.** 2000a. Microbiological testing of raw, boxed beef in the context of hazard analysis critical control point at a high-line-speed abattoir. *J. Food Prot.* 63(12): 1681-1686.
103. **Jericho K.W.F., Ho J., Kozub G.C.** 2000b. Aerobiology of a high-line speed cattle abattoir. *J. Food Prot.* 63(11): 1523-1528.

104. **Jericho K.W.F., Kozub G.C., Bradley J.A., Ganon V.P.J., Golsteyn-Thomas E.J., Gierus M., Nishiyama B.J., King R.K., Tanaka E.E., D'Souza S., Dixon-MacDougall J.M.** 1996. Microbiological verification of the control of the processes of dressing, cooling and processing of beef carcasses at a high line-speed abattoir. *Food Microbiol.* 13: 291-301.
105. **Jordan D., McEwen S.A., Lammerding A.M., McNab W.B., Wilson J.B.** 1999. A simulation model for studying the role of pre-slaughter factors on the exposure of beef carcasses to human microbial hazards. *Prev. Vet. Med.* 41(1): 37-54.
106. **Kathariou S.** 2002. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *J. Food Prot.* 65(11): 1811-1829.
107. **Kelly C.A., Dempster J.F., McLoughlin A.J.** 1981. The effects of temperature, pressure and chlorine concentration of spray washing water on numbers of bacteria on lamb carcasses. *J. Appl. Bacteriol.* 51: 415-424.
108. **Kilsby D.C., Pugh M.E.** 1981. The relevance of the distribution of microorganisms within batches of food to the control of microbiological hazards from foods. *J. Appl. Bacteriol.* 51: 345-354.
109. **Kochevar S.L., Sofos J.N., Bolin R.R., Reagan J.O., Smith G.C.** 1997. Steam vacuum as a pre-evisceration intervention to decontaminate beef carcasses. *J. Food Prot.* 60(2): 107-113.
110. **La Ragione R.M., Cooley W.A., Woodward M.J.** 2000. The role of fimbriae and flagella in the adherence of avian strains of *Escherichia coli* O78:K80 to tissue culture cells and tracheal and gut explants. *J. Med. Microbiol.* 49(4): 327-338.

111. **Lasta J.A., Rodriguez R., Zaneli M., Margaria C.A.** 1992. Bacterial count from bovine carcasses as an indicator of hygiene at slaughtering places: A proposal for sampling. *J. Food Prot.* 54(4): 271-278.
112. **Lawrie R.A.** 1998. The spoilage of meat by infecting organism, p.119-142. In Lawrie R.A, 6e ed, *Lawrie's Meat Science*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
113. **Legg S.J., Khela N., Madie P., Fenwick S.G., Quynh V., Hedderley D.I.** 1999. A comparison of bacterial adherence to bare hands and gloves following simulated contamination from a beef carcass. *Int. J. Food Microbiol.* 53(1): 69-74.
114. **Lejeune J.T., Besser T.E., Hancock D.D.** 2001. Cattle water throughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157:H7. *Environ. Microbiol.* 67: 3053-3057.
115. **Lisle J.T., Broadaway S.C., Prescott A.M., Pyle B.H., Fricker C., McFeters G.A.** 1998. Effects of starvation on physiological activity and chlorine disinfection resistance in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(12): 4658-4662.
116. **Liu S., Graham J.E., Bigelow L., Morse P.D., Wilkinson B.J.** 2002. Identification of *Listeria monocytogenes* genes expressed in response to growth at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(4): 1697-1705.
117. **Logue C.M., Sherwood J.S., Olah P.A., Elijah L.M., Dockter M.R.** 2003. The incidence of antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. on freshly processed poultry from US Midwestern processing plants. *J. Appl. Microbiol.* 94(1): 16-24.
118. **Marshall KC, Stout R, Mitchell R.** 1971. Selective sorption of bacteria from seawater. *Can. J. Microbiol.* 17(11): 1413-1416.

119. **Martin S.E, Fisher C.W.** 2000. *Listeria monocytogenes*, p. 1228-1238. In Robinson R.K, Batt C.A and Patel P.D. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press, San Diego (California).
120. **McDermott PF, Zhao S, Wagner DD, Simjee S, Walker RD, White DG.** 2002. The food safety perspective of antibiotic resistance. Anim. Biotechnol. 13(1): 71-84.
121. **McEvoy J.M., Doherty A., Finnerty M., Sheridan J.J, McGuire L., Blair I.S., McDowell D.A., Harrington D.** 2000. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. Letter. Appl. Microbiol. 30: 390-395.
122. **Meng J., Zhao S., Doyle M.P.** 1998. Virulence genes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from food, animals and humans. Int. J. Food Microbiol. 45(3): 229-235.
123. **Murinda S.E., Roberts R.F., Wilson R.A.** 1996. Evaluation of colicin for inhibitory activity against diarrheagenic *Escherichia coli* O157:H7 coli strains, including serotype O157:H7. Appl. Environ. Microbiol. 62(9): 3196-3202.
124. **National Committee for Clinical Laboratory Standards, Inc.** 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A6. vol. 17(31). National Committee for clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
125. **Nougayrede JP, Fernandes PJ, Donnenberg MS.** 2003. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to host cells. Cell Microbiol. 5(6): 359-372.
126. **Nutsch A.L., Phebus R.K., Riemann M.J., Kotrola J.S., Wilson R.C., Boyer J.E., Brown T.L.** 1998. Steam pasteurization of commercially slaughtered beef carcasses: evaluation of bacterial populations at five anatomical locations. J. Food Prot. 61(5): 571-577.

127. **Nutsch A.L., Phebus R.K., Riemann M.J., Schafer D.E., Boyer J.E., Wilson R.C., Leising J.D., Kastner C.L.** 1997. Evaluation of a steam pasteurisation process in a commercial beef processing facility. *J. Food Prot.* 60(5): 485-492.
128. **Oelschlaeger T.A., Dobrindt U., Hacker J.** 2002. Virulence factors of uropathogens. *Curr. Opin. Urol.* 12(1): 33-38.
129. **Orskov F., Orskov I.** 1992. *Escherichia coli* serotyping and disease in man in animals. *Can. J Microbiol.* 38: 699-704.
130. **Page J.K., Wulf D.M., Schwotzer T.R.** 2001. A survey of beef muscle color and pH. *J. Anim. Sci.* 79(3): 678-687.
131. **Phebus R.K., Nutsch A.L., Schafer D.E., Wilson R.C., Riemann M.J., Leising J.D., Kastner C.L., Wolf J.R., Prasai R.K.** 1997. Comparison of steam pasteurisation and other methods for reduction of pathogens on surfaces of freshly slaughtered beef. *J. Food Prot.* 60(5): 476-484.
132. **Poppe C., Ziebell K., Martin L., Allen K.** 2002. Diversity in antimicrobial resistance and other characteristics among *Salmonella* Typhimurium DT104 isolates. *Microb. Drug Resist.* 8(2): 107-22.
133. **Portnoy DA, Auerbuch V, Glomski IJ.** 2002. The cell biology of *Listeria monocytogenes* infection: the intersection of bacterial pathogenesis and cell-mediated immunity. *J Cell Biol.* 158(3): 409-414.
134. **Potter A.A.** 2000. Prevention of *Escherichia coli* O157:H7 colonization of cattle by vaccination. Las Vegas, NV: Meat industry research conference.

135. **Prazak A.M., Murano E.A., Mercado I., Acuff G.R.** 2002. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from various cabbage farms and packing sheds in Texas. *J Food Prot.* 65(11): 1796-1799.
136. **Rahkio T.M., Korkeala H.J.** 1997. Airborne bacteria and carcass contamination in slaughterhouses. *J. Food Prot.* 60(1): 38-42.
137. **Ransom J.R., Belk K.E., Bacon R.T., Sofos J.N., Scanga J.A., Smith G.C.** 2002. Comparison of sampling methods for microbiological testing of beef animal rectal/colonal feces, hides, and carcasses. *J. Food Prot.* 65(4): 621-626.
138. **Rasmusen M.A., Cassey T.A.** 2001. Environment and food safety aspects of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. 27(2): 57-73.
139. **Reid C.A., Small A., Avery S.M., Buncic S.** 2002. Presence of food-borne pathogens on cattle hides. *Food control.* 13: 411-415.
140. **Rheault N., Quessy S.** 1999. Évaluation de la contamination microbienne des plaies de saignée lors du processus d'abattage des porcs. *Can. Vet. J.* 40: 261-264.
141. **Rice E.W., Clark R.M., Johnson C.H.** 1999. Chlorine inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 461-463.
142. **Roberts T.A., MacFie H.J.H., Hudson W.R.** 1980. The effect of incubation temperature and site of sampling on assessment of the numbers of bacteria and red meat carcasses at commercial abattoirs. *J. Hyg. Camb.* 85: 371-380.
143. **Rocourt J., Cossart P.** 1997. *Listeria monocytogenes* p.337-352. In Doyle MP, Beuchat L R, Montville TJ (ed), *Food microbiology: Fundamentals and frontiers.* ASM Press, Washington, D.C.

144. **Ronald A.** 2002. The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.* 113 Suppl 1A: 14S-19S.
145. **Rowe M.T., Kirk R.B.** 2000. Effect of nutrient starvation on the resistance of *Escherichia coli* O157:H7 to subsequent heat stress. *J. Food Prot.* 63(12): 1745-1748.
146. **Rozier J., Carlier V., Bolnot F.** 1985 Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Maisons-Alfort : École nationale vétérinaire, 230 p.
147. **Rusell J.B, Diez-Ganzales F., Jarvis G.N.** 2000. Invited review: effects of diet shifts on *Escherichia coli* in cattle. *J Dairy Sci.* 83(4): 863-73.
148. **Rusell S.M.** 1996. The effect of refrigerated and frozen storage on populations of mesophilic and coliform bacteria on fresh broiler chicken carcasses. *Poultry Sci.* 75: 2057-2060.
149. **Ryan M, Zaikova TO, Keana JF, Goldfine H, Griffith OH.** 2002. *Listeria monocytogenes* phosphatidylinositol-specific phospholipase C: activation and allostery. *Biophys Chem.* 101-102: 347-358.
150. **Samelis J., Sofos J.N., Kendall P.A., Smith G.C.** 2001 Fate of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium DT 104 and *Listeria monocytogenes* in fresh meat decontamination fluids at 4 and 100°C. *J. Food Prot.* 64(7): 950-957.
151. **Schaechter M.** 2001. *Escherichia coli* and *Salmonella* 2000: the view from here. *Microbiol Mol. Biol. Rev.* 65(1): 119-130.
152. **Schnell T.D., Sofos J.N., Littlefield V.G., Morgan J.B., Gorman B.M., Clayton R.P., Smith G.C.** 1995. Effects of post-exanguination dehairing on the microbial load and visual cleanliness of beef carcasses. *J Food Prot.* 58: 1297-1302.

153. **Schroeder C.M., White D.G., Ge B., Zhang Y., McDermott P.F., Ayers S., Zhao S., Meng J.** 2003. Isolation of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* from retail meats purchased in Greater Washington, DC, USA. *Int. J. food Microbiol.* 85: 197-202.
154. **Schubert WD, Urbanke C, Ziehm T, Beier V, Machner MP, Domann E, Wehland J, Chakraborty T, Heinz DW.** 2002. Structure of internalin, a major invasion protein of *Listeria monocytogenes*, in complex with its human receptor E-cadherin. *Cell.* 111(6): 825-836.
155. **Schuchat A., Swaminathan B., Broome C.V.** 1991. Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol Rev.* (4): 169-183.
156. **Seidler T., Alter T., Kruger M., Fehlhaber K.** 2001. Transport stress--consequences for bacterial translocation, endogenous contamination and bactericidal activity of serum of slaughter pigs. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10): 375-377.
157. **Sheridan J.J.** 1998. Sources of contamination during slaughter and measures for control. *J. Food Safety* 18: 321-339.
158. **Siragusa G.R., Dorsa W.J., Cutter C.N., Bennett G.L., Keen J.E., Koohmaraie M.** 1998. The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count categories during the slaughter process. *J. Food Prot.* 61(10): 1269-1274.
159. **Smoot L.M., Pierson M.D.** 1997. Indicator microorganisms and microbiological criteria, p. 66-80. *In* Doyle MP, Beuchat L R, Montville TJ (ed), *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C.
160. **Smulders F.J., Greer G.G.** 1998. Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmes for muscle foods: prospects and controversies. *Int. J. Food Microbiol.* 44(3): 149-169.

161. **Sofos J.N., Kochevar S.L., Reagan J.O., Smith G.C.** 1999a. Incidence of *Salmonella* on beef carcasses relating to the U.S. meat and poultry inspection regulations. *J Food Prot.* 62(5): 467-473.
162. **Sofos J.N., Kochevar S.L., Reagan J.O., Smith G.C.** 1999b. Extent of beef carcass contamination with *Escherichia coli* and probabilities of passing U.S. regulatory criteria. *J. Food Prot.* 62(3): 234-238.
163. **Sofos J.N., Kochevar S.L., Bellinger G.R., Buege D.R., Hancock D.D., Ingham S.C., Morgan J.B., Reagan J.O., Smith G.C.** 1999c. Sources and extent of microbiological contamination of beef carcasses in seven United States slaughtering plants. *J. Food Prot.* 62(2): 140-145.
164. **Stolle F.A.** 1988. Establishing microbiological surveillance programme at slaughterlines- a new concept of meat hygiene. *Meat Sci.* 22: 203-211.
165. **Threlfall E.J., Fisher I.S., Berghold C., Gerner-Smidt P., Tschape H., Cormican M., Luzzi I., Schnieder F., Wannet W., Machado J., Edwards G.** 2003. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000: results of international multi-centre surveillance. *Euro. Surveill.* 8(2): 41-45.
166. **Tkalcic S., Brown C.A., Harmon B.G., Jain A.V., Mueller E.P., Parks A., Jacobsen K.L., Martin S.A., Zhao T., Doyle M.P.** 2000. Effects of diet on rumen proliferation and fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. *J. Food Prot.* 63: 1630-1636.
167. **Tollefson L., Miller M.A.** 2000. Antibiotic use in food animals: controlling the human health impact. *J. AOAC Int.* 83(2): 245-254.
168. **Trout H.F., Osburn B.I.** 1997. Meat from dairy cows: possible microbiological hazards and risks. *Rev. Sci. Tech.* 16(2): 405-414.

169. **Uhtil S, Jacksic S., Petrack T, Botka-Petrak.** 2001. Presence of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef and ground baby beef meat. J. Food Prot. 64(6): 862-864.
170. **Untermann F., Stephan R., Dura U., Hofer M., Heimann P.** 1997. Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control program of abattoirs. Int. J. Food Microbiol. 34(1): 67-77.
171. **Vallance B.A, Chan C., Robertson M.L., Finlay B.B.** 2002. Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections: emerging themes in pathogenesis and prevention. Can. J. Gastroenterol. 16(11): 771-778.
172. **Vasquez-Boland, J.A., Kocks C., Dramsi S., Ohayon H., Geoffroy C., Mengaud J., Cossart P.** 1992. Nucleotid sequence of the lecithinase operon of *Listeria monocytogenes* and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. Infect. Immun. 60: 219-230.
173. **Vela A.I., Fernandez-Garayzabal J.F., Latre M.V., Rodriguez A.A., Dominguez L., Moreno M.A.** 2001. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningoencephalitis in sheep. Int. J. Antimicrob. Agents. 17(3): 215-220.
174. **Ware L.M., Kain M.L., Sofos, J.N., Belk K.E., Reagan J.O., Smith J.C.** 2001. Influence of sampling procedure, handling and storage on the microbiological status of fresh beef. Dairy Food Environ. San. 21(1): 14-19.
175. **Ware L.M., Kain M.L., Sofos J.N., Belk K.E., Smith G.C.** 1999. Comparison of sponging and excising as sampling procedures for microbiological analysis of fresh beef-carcass tissue. J. Food Prot. 62(11): 1255-1259.

176. **Warriner K., Eveleigh K., Goodman J., Betts G., Gonzales M., Waites W.M.** 2001. Attachment of bacteria to beef from steam-pasteurized carcasses. *J. Food Prot.* 64(4): 493-497.
177. **Watanabe A., Daly C.C., Devine C.E.** 1996. The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. *Meat Sci.* 42: 67-78.
178. **White D.G., Zhao S., Simjee S., Wagner D.D., McDermott P.F.** 2002. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes Infect.* 4(4): 405-412.
179. **White D.G., Zhao S., Sudler R., Ayers S., Friedman S., Chen S., McDermott P.F., McDermott S., Wagner D.D., Meng J.** 2001. The isolation of antibiotic-resistant salmonella from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.* 345(16): 1147-1154.
180. **Wulf D.M., Page J.K.** 2000. Using measurements of muscle color, pH, and electrical impedance to augment the current USDA beef quality grading standards and improve the accuracy and precision of sorting carcasses into palatability groups. *J. Anim. Sci.* 78(10): 2595-2607.
181. **Yang SJ, Park KY, Seo KS, Besser TE, Yoo HS, Noh KM, Kim SH, Kim SH, Lee BK, Kook YH, Park YH.** 2001. Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis identified by multiplex PCR from animals. *J. Vet. Sci.* 2(3): 181-188.
182. **Zhao T., Doyle M.P., Harmon B.G., Brown, C.A., Mueller P.O.E., Parks A.H.** 1998. Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. *J. Clinical Microbiol.* 36: 641-647.

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE¹

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant HAROLD CORANTIN		Code permanent [REDACTED]
Sigle du programme M.Sc.	Titre du programme Sciences vétérinaires	Option Microbiologie

DESCRIPTION DE L'ARTICLE

Auteurs HAROLD CORANTIN, SYLVAIN QUESSY, MARIE-LOU GAUCHET, L. LESARD, D. LEBLANC, A. H.	
Titre Évaluation de l'efficacité de la pasteurisation à la vapeur pour le contrôle des dangers microbiologiques	
Revue Revue vétérinaire canadienne	Date de publication en préparation

DECLARATION DES COAUTEURS

Déclaration À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, j'autorise le microfilmage du mémoire et je suis d'accord que (nom de l'étudiant) inclut cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre (titre du mémoire).		
Coauteur SYLVAIN QUESSY	[REDACTED]	Date 8 sept 2003
Coauteur Alain Houde	[REDACTED]	Date 11 sept 2003
Coauteur Marie Perreault	[REDACTED]	Date 20 sept 2003
Coauteur DANIELLE LEBLANC	[REDACTED]	Date 11 sept 2003
Coauteur Marie-Lou Gauchet	[REDACTED]	Date 16 sept. 2003
Coauteur	Signature /	Date
Coauteur	Signature	Date
Coauteur	Signature	Date

Envoyé à la FÉS le **17 sept. 2003**

¹Annexe II du Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat, mars 2001